
EVALUACIÓN CLÍNICA ASOCIADA A PRINCIPALES HEMOPARÁSITOS EN BOVINOS DEL MUNICIPIO LIBERTADOR, ESTADO MONGAGAS

Gómez¹ Ely , Brito¹ Alfredo, Coronado² Luis

¹Departamento de Biología y Sanidad Animal (UDO)

²Departamento de Producción e Industria Animal (UDO)

elygomez01@gmail.com

Resumen

Las hemoparasitosis bovinas constituyen una seria limitación para el desarrollo de la ganadería ubicada en países tropicales y subtropicales, causando anemia, pérdida de peso, abortos, disminución de la producción de leche y carne, trastornos reproductivos y efectos negativos en la productividad. El propósito del presente trabajo fue evaluar el estatus sanitario asociado con el diagnóstico de *Anaplasma marginale* y *Trypanosoma* spp., en unidades de producción bovina ubicadas en el municipio Libertador, del estado Monagas. Para ello, se realizó un muestreo aleatorio en 10 fincas, evaluándose clínicamente 216 animales, mediante la toma de temperatura corporal y examen físico sistematizado. Posteriormente, las muestras sanguíneas fueron sometidas a exámenes hematológicos rutinarios, y analizadas a través del empleo de técnicas parasitológicas directas, mediante frotis sanguíneos teñidos. Se obtuvo la prevalencia en cada una de las hemoparasitosis, se detectó 10,75% para *A. marginale* y 1,69% de infección activa para *Trypanosoma* spp. Los análisis estadísticos no reflejaron diferencias significativas ($p>0,05$), entre los parámetros clínicos: temperatura corporal, hematocrito y proteínas séricas totales, con respecto a la detección de los agentes infecciosos. Se corroboró la condición de estabilidad enzoótica en *A. marginale* y el carácter epizoótico para *Trypanosoma* spp, en la población bovina evaluada.

Palabras clave: *anaplasma marginale*, bovino, hemoparásitos, tripanosomosis

Introducción

Las características climáticas en los medios tropical y subtropical, brindan las condiciones ambientales óptimas para la proliferación parasitaria, por ello los animales domésticos criados en estas áreas, están sometidos permanentemente a la acción de múltiples hemoparasitos, las cuales constituyen uno de los principales factores limitantes en el desarrollo de la ganadería, por efectos directos sobre los animales (provocando la muerte), e indirectos (pérdida de peso, retardo de crecimiento, etc.), lo cual se traduce en pérdidas económicas para los productores y retrasos en el desarrollo del sector agrícola en el país [Tamasaukas y Roa, (1996); Rey, (2004)].

Anaplasma marginale es un patógeno del orden Rickettsiales, gram-negativo e intraeritrocitaria [Dumler *et al.*, (2001)], transmitida biológicamente por varias especies de garrapatas, entre las cuales se encuentran *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *R. annulatus* [Kocan *et al.*, (2003)]. Mientras, *Trypanosoma (Duttonella) vivax*, es un protozoario ubicado principalmente en sangre, linfa y nódulos linfáticos. La transmisión de los tripanosomas en América Latina, es mecánicamente por insectos hematófagos, pertenecientes a las familias Tabanidae y Stomoxidae [Rivera, (1996); Desquesnes, (2004)]. Los dos microorganismos afectan a rumiantes domésticos (bovinos, ovinos, caprinos y bufalinos) y silvestres, causando fiebre, anemia, ictericia, constipación la anaplasmosis. Por otra parte, la tripanosomosis se caracteriza por cursar con ondas de parasitemia,

fiebre intermitente y recurrente, anemia, pérdida progresiva de peso, deterioro de condición física general, anorexia y letargia. Ambos agentes infecciosos producen efectos negativos sobre la fertilidad y reproducción tanto en hembras como machos y pérdidas en la producción [Guglielmone, (1995); Contreras, (2000); García *et al.*, (2002); Osorio *et al.*, (2008)].

Es importante destacar la transmisión iatrogénica para ambas enfermedades hemotrópicas, a través del uso de agujas e instrumentos contaminados, durante la realización de vacunaciones, intervenciones quirúrgicas (descornes, castraciones, entre otras), y en las aplicaciones de tratamientos masivos, los cuales facilitan el pasaje de sangre de bovinos infectados a otros susceptibles [Otte, (1992); Desquesnes, (2004); Kocan *et al.*, (2010); Reinbold *et al.*, (2010)].

Para estas enfermedades, el diagnóstico clínico se basa en recopilación de la historia del animal, evaluación de los signos clínicos, edad y estado fisiológico entre otros (Contreras, 2000). El diagnóstico directo, consiste en la identificación de la bacteria y/o parásito, respectivamente. Con frotis delgados coloreados, examen en fresco o directo de sangre, punción ganglionar o líquido cefalorraquídeo, frotis gota gruesa y frotis de capa blanca y adicionalmente, microcentrifugación capilar o Woo [Rivera, (1996); Woo, (1970)].

De allí la importancia en este tipo de estudios para facilitar y establecer adecuados métodos integrados para diagnóstico y control de estas enfermedades. Por ello, el objetivo

general de esta investigación fue realizar una evaluación clínica asociada a la detección de los principales hemoparásitos en bovinos del municipio Libertador, estado Monagas

Materiales y Métodos

Características del área de estudio y fincas seleccionadas

La zona corresponde mayoritariamente al paisaje de mesa llana, se encuentra localizada entre las Latitudes Norte 09° 06' y 08° 56' y las Longitudes Oeste 62° 28' y 62° 16' a una altitud de 30 msnm, con suelos de tex tura gruesa, arenoso franco a franco arenoso, hasta suelos de textura fina, franco arcilloso a arcilloso (MARNR, 1984). La precipitación total anual de 1.181 mm. y dos períodos de lluvia: el primero se extiende desde mayo a septiembre y el segundo corresponde a los meses de noviembre y diciembre. Los promedios de humedad relativa y temperatura anuales son de 68,5 % y 26,70 °C, correspondiendo a la zona de vida de Bosque seco tropical [Holdridge, (1978); MARNR, (1984)]. Se seleccionaron diez fincas al azar, localizadas en el área de influencia del Centro de Fomento y Producción de Ovinos y Caprinos (CEFOPROCA), ubicado en el kilómetro 14 de la carretera nacional Tembladlor-Tabasca, municipio Libertador, del estado Monagas; colectándose muestras sanguíneas de 216 bovinos mestizos, de diferentes edades y género, en fincas doble propósito, en el periodo de Octubre a Junio durante los años 2010 y 2011, respectivamente. Los animales fueron evaluados clínicamente y la

sangre se examinó para detectar la presencia de anaplasmas tripanosomas.

Tamaño de la muestra

Se utilizó la fórmula de estimación para proporción en muestreos simples al azar en poblaciones infinitas propuesta por Málaga (1990). Se muestrearon 216 bovinos, recolectándose dos (2) muestras sanguíneas por animal a través de punción en la vena yugular o coccígea, utilizando tubos Vacutainer® con EDTA y sin anticoagulante. Simultáneamente, se realizó un examen clínico a cada animal, se inspeccionaron las mucosas visibles: ocular, gingival y vulvar, además se palparon los ganglios linfáticos. La determinación de la temperatura corporal, se realizó a través del recto empleando un termómetro clínico.

Valores de hematocrito

Se determinaron mediante el método de centrifugación del microhematocrito, utilizando tubos capilares, en los cuales se colocaron 60 µL de sangre aproximadamente, se sellaron en uno de los extremos y posteriormente se centrifugaron a 10.000 rpm durante 5 minutos en una centrífuga clínica (Digisystem Laboratory Instruments®). Los valores se expresaron en porcentaje (%) de eritrocitos con relación al volumen total de sangre (Maxime, 1984).

Determinación de las proteínas séricas

Se utilizó un Refractómetro-Urinómetro portátil Marca ATC®. Se sujetó el instrumento en posición horizontal. Luego, se cargó levantando la placa protectora, se colocaron 20 µL de muestra sobre el prisma de medición. Inmediatamente, se cerró la placa

protectora sobre el prisma de medición, la lectura se realizó exponiendo el aparato hacia una fuente de luz.

Diagnóstico directo de *A. marginal*

Se procedió mediante el empleo de frotis delgados teñidos, con la coloración rápida Microscopy Hemacolor®, siguiendo el protocolo indicado por fabricante, se observaron en un microscopio marca Optima, modelo XSZ-207. Los frotis sanguíneos se evaluaron con el objetivo 100X. El porcentaje de parasitemia se cuantificó por el número de eritrocitos parasitados, en un total de 100 campos contados en el extendido sanguíneo (Kelly, 1983).

Diagnóstico de infecciones activas por tripanosomas

Estuvo basado en la detección microscópica de los parásitos en sangre fresca, con menos de 8 horas de recolección (Gómez-Piñeres *et al.* 2009), mediante la técnica de microcentrifugación capilar (TMC); se evaluó la capa de plasma sobre los glóbulos blancos en los tubos capilares, posterior al proceso de centrifugación. Se empleó un microscopio Optima®, modelo XSZ-207, con el objetivo 10X, para detectar la existencia de los tripanosomas cerca del “buffy coat” o capa flogística (Woo, 1970).

Análisis estadístico

Los datos se agruparon en una matriz completa. Se analizaron mediante técnicas descriptivas y de inferencia, expresados en porcentajes. Se utilizaron métodos estadísticos no paramétricos [Chi cuadrado “chi²”; (SAS, 2001)]. Para determinar la prevalencia de *A. marginale*, se tomaron en cuenta la cantidad de muestras con presencia

de microorganismos en los frotis sanguíneos. Mientras, la prevalencia de infecciones activas por tripanosomas en los bovinos muestreados, fue calculada como el número de muestras positivas por la técnica de microcentrifugación (TMC), dividido por el total de muestras evaluadas. Ambas se asociaron a los parámetros clínicos temperatura corporal, hematocrito y proteínas séricas totales.

Resultados y Discusión

La evaluación clínica reveló una temperatura corporal promedio de $38,9 \pm 0,54$ °C, hematocrito $28,6 \pm 6,04\%$ y proteínas séricas totales de $6,86 \pm 1,11$ g/dL. Estos parámetros señalaron valores dentro de intervalos normales para esta especie animal (Radostits *et al.* 2004). Sin embargo, no reflejaron diferencias significativas ($p > 0,05$), con respecto a la detección de los hemoparásitos; aún cuando esta descrito que ambas enfermedades cursan con fiebre y anemia. Además, en la inspección sistematizada se pudo apreciar en algunos casos, membranas mucosas pálidas, ganglios linfáticos aumentados de tamaño y pobre condición corporal. La temperatura es un aspecto clínico importante a considerar, relacionado con los cuadros febres, característicos de ambas enfermedades hemoparasitarias en la fase aguda de infección, constituyendo el principal signo reconocido en animales con anaplasmosis y tripanosomosis bovina, llegando alcanzar los 40°C y raramente exceder los 41°C (Rivera, 1996). Sin embargo, en los casos de infecciones con tripanosomas, las variaciones entre

los períodos febriles y afebriles, ha demostrado un carácter recurrente y en algunos casos remitente a éste parámetro. La fiebre, se asocia a crisis tripanolíticas, en las cuales las variaciones de temperatura incrementan la fragilidad osmótica en los eritrocitos, lo cual resulta en un acortamiento del tiempo de vida útil de estas células, debido al incremento en su destrucción (Murray y Dexter, 1988).

Por otra parte, el hematocrito representa la prueba aislada más valiosa, proporciona gran información y especialmente en la forma de microhematocrito. Provee información sobre las proporciones de sangre ocupada por los hematíes, es decir el volumen de células compactas, leucocitos, plaquetas y plasma (Bush, 1982).

Con respecto a las proteínas séricas totales, uno de los aspectos que ha recibido considerable atención en las infecciones con tripanosomas, están relacionadas con la presencia y significado de la hemodilución como mecanismo generador de la anemia en la enfermedad (Anosa y Isoun, 1980).

Para la anaplasmosis, cuando el 15% de los eritrocitos son parasitados comienzan a aparecer los síntomas de la enfermedad, destacándose entre

los más importantes: fiebre, anemia, ictericia, pérdida de peso, anorexia, debilidad muscular, disminución de la productividad, pérdida de la libido en toros, aborto en vacas y posible muerte. Cuando el animal logra recuperarse entra en un estado portador, donde la cantidad de bacterias es reducida y los síntomas clínicos de la enfermedad no se manifiestan, curiosamente el animal nunca logra eliminar completamente el agente infeccioso del torrente circulatorio [Rivera, (1996); Knowles *et al.*, (1996)]. En Venezuela la anaplasmosis constituye un serio problema para el desarrollo de la industria ganadera; encontrándose en diferentes regiones y asociada a otras hemoparasitosis como la tripanosomosis y babesiosis, las cuales causan muerte de gran cantidad de bovinos [Rey-Valeiron *et al.*, (2002)]. Los resultados obtenidos para la prevalencia de anaplasmosis bovina, por la técnica diagnóstica directa, empleando frotis sanguíneos teñidos, fue 10,75%. Por otra parte, la técnica de microcentrifugación capilar reveló que 1,69% (3/178), de los bovinos evaluados presentaron infección activa por *Trypanosoma* spp para el momento del muestreo (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia de *A. marginale* y *Trypanosoma* spp. en bovinos del municipio Libertador del estado Monagas

	<i>A. marginale</i>		trípanosomosis	
	Animales	%	Animales	%
Positivo	23	10,75	3	1,69
Negativo	191	89,25	175	98,31
Total	214	100	178	100

La prevalencia de *A. marginale* en este estudio, fue similar a lo reportado por Toro *et al.*, (1983), en sangre bovina del estado Guárico, en Venezuela; con una prevalencia de 8,3%. Mientras, Guillen *et al.* (2001), señalaron la presencia en mayor porcentaje de este microorganismo en frotis evaluados con 15,87%. De igual manera, en Brasil, Do Nacimiento *et al.*, (2012), señalaron prevalencia de 15,64%.

Otros estudios en Venezuela, señalaron en el estado Guárico, prevalencia del 47% mediante la técnica de tinción Acridina Naranja-Bromuro etidio [Eleizalde *et al.*, (2003)]. Estas diferencias pueden ser atribuibles a diferentes condiciones enzoóticas existentes, debido a la variabilidad de las características agroecológica, favorables para el desarrollo de los vectores involucrados en la transmisión de la enfermedad [Gugliemone, (1995); Alfaro *et al.*, (1998); Kocan *et al.*, (2010)].

Con respecto a la tripanosomosis, en Venezuela, Guillen *et al.* (2001), reportaron a través de los registros del Instituto de Investigaciones veterinarias 9,72% de infecciones activas con *Trypanosoma vivax* en muestras sanguíneas. En relación a la detección de la enfermedad en pequeños rumiantes, García *et al.*, (2009), mediante la técnica de microcentrifugación capilar revelaron que 4,35% (11/320) de los ovinos evaluados presentaron infecciones por *Trypanosoma* spp., en dos municipios del estado Apure. Mientras que García *et al.*, (2002) reportaron brotes causados por *T. vivax* en rebaños de caprinos y ovinos en el estado Falcón, mediante el empleo de

frotis teñidos con Giemsa al 10%. En los animales afectados observaron fiebre, anorexia, debilidad, mucosas pálidas, adenomegalias, ictericia, emaciación y muerte, respectivamente. Finalmente, se pudo confirmar que el diagnóstico directo mediante el empleo de frotis sanguíneos, constituye una técnica de referencia y el método más común para la detección de *A. marginale*, así como también la técnica de microcentrifugación capilar para tripanosomosis en animales infectados a campo. Contrariamente, cuando los animales están en fase crónica o estadio de portador, no expresan un elevado nivel de parasitemia como para ser detectado directamente, por lo cual se requiere la utilización de técnicas serológicas más precisas y sensibles, tales como inmunofluorescencia indirecta (IFI), ensayo inmunoenzimático (ELISA), y moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Las pruebas estadísticas revelaron para los dos agentes infecciosos, que las variables clínicas consideradas como la temperatura corporal, el hematocrito y las proteínas séricas totales, no fueron afectadas por la condición de positividad en los métodos de diagnóstico directo. En el caso de *A. marginale* se podrían tratar de animales portadores o con inmunidad coinfeciosa, este último caracterizado por infecciones persistentes, no detectables mediante examen directo como frotis teñidos, pero si a través de técnicas serológicas (Potgieter, 1979).

Conclusiones

La evaluación clínica en los bovinos del municipio Libertador del estado Monagas no reveló una asociación entre los parámetros clínicos como temperatura corporal, hematocrito y proteínas séricas totales con la detección de *A. marginale* y *Trypanosoma* spp.

Adicionalmente, la presencia de estos agentes infecciosos incide negativamente en la rentabilidad de las unidades agropecuarias en la zona de estudio, por sus efectos adversos a la salud y a la producción animal.

Agradecimiento

Esta investigación recibió apoyo financiero del Consejo de Investigación, del Núcleo Monagas de la Universidad de Oriente, a través del proyecto de Investigación “Diagnóstico parasitológico comparativo en especies de interés pecuario en el estado Monagas”, identificado con el código: CI-4-031102-1604-09. También los autores agradecen a todos los productores del municipio Libertador, del estado Monagas por facilitar sus animales y aceptar las recomendaciones.

Referencias Bibliográficas

- Alfaro, C.; Toro, B.; García, F.; Valle, A. (1998). Epidemiología de la anaplasmosis bovina en el estado Monagas. 23(1): (pp. 65-79). Asociación con factores extrínsecos e intrínsecos del hospedador. Veterinaria Tropical.
- Bush, B. (1982). Manual del Laboratorio Veterinario de Análisis Clínicos. 132- 138. Acribia. Zaragoza, España.
- Contreras, J. (2000). Enfermedades de los Bovinos. Diagnóstico, Tratamiento y Control. (2da. ed.). 859 pp. Barquisimeto. Venezuela.
- Desquesnes, M. (2004). Livestock Trypanosomes and their Vectors in Latin America. 174 pp. CIRAD/EMVT. OIE Paris.
- Do Nascimento, G.; De Oliveira, M.; De Lima, S.; Da Cuhna, R.; Cirilo, E.; Cirilo, C.; Gonçalve, T.; Alves, S. (2012). Ocorrências de Babesiose e Anaplasmosose no Brejo Paraibano, [en línea]. Recuperado el 25 de enero de 2012, de http://www.agronline.com.br/agrociencia/pdf/public_48.pdf.
- Dumler, S.; Barbet, C.; Bekker, G.; Dash, G.; Palmer, S.; Ray, R.; Yasuko, A.; Rurangirwa, F. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Erlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of *Erlichia equi* and HE agent as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 51: 2145-2165.
- Eleizalde, M.C.; Reyna-Bello, A.; Caballero, H.; Vivas, J. (2003). Evaluación y mejoramiento del ensayo inmunoenzimático (ELISA) para diagnóstico de la anaplasmosis bovina. AsoVAC. Maracaibo. Venezuela.
- García, F. A.; Suárez, C.; Daza, E.; Simoes, D.; Rivera, M. (2002). Brotes causados por *Trypanosoma vivax* en rebaños de caprinos y ovinos del estado Falcón, 19 - 21 / 09 : (pp 599-

- 604). Venezuela. XXVII Jornadas Científicas y VI Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Valencia, España.
- García, H.; Rangel-Rivas, A.; Contreras, I.; García, M.; García, F.; Perrone, T. (2009). Caracterización molecular de *Trypanosoma vivax* en ovinos naturalmente infectados en dos hatos de los municipios San Fernando y Biruaca, estado Apure, Venezuela. Revista Científica FCV-LUZ. XIX(3): 230–237.
- Gómez-Piñeres, E.; Tavares-Marques, L.; Reyna-Bello, A. (2009). Tiempo de supervivencia in vivo y criopreservación de *Trypanosoma vivax*. Revista Científica FCV- LUZ. XIX (3): 225-229.
- Guglielmone, A. (1995). Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. 57: Journal of Veterinary Parasitology. 109-119.
- Guillén, A.; León, E.; Aragort, W.; Silva, M. (2001). Diagnóstico de hemoparásitos en el Instituto de Investigaciones Veterinarias. Período 1986-2000. Veterinaria Tropical. 26(1): 47-62.
- Holdridge, L. (1978). Ecología Basada en Zonas de Vida. IIICA. 216pp. San José de Costa Rica.
- Kelly, W. R. (1983). Diagnóstico Clínico Veterinario. Continental. (5ta. ed.) 444 pp. México.
- Knowles, D.; Torioni, S.; Palmer, G.; McGuire, T.; Stiller, D.; McElwain, T. (1996). Antibody against an *Anaplasma marginale* MSP5 epitope common to tick and erythrocytes stages identifies persistently infected cattle. Journal of Clinical Microbiology. 34: 2225–2230.
- Kocan, K. M.; De la Fuente, J.; Guglielmone, A.; Meléndez, R. D. (2003). Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. Journal of Clinical Microbiology. Review. 16: 698-712.
- Kocan K.; De la Fuente, J.; Blouin, E.; Coetze, J.; Ewing, S. (2010). The natural history of *Anaplasma marginale*. Veterinary Parasitology. 1010-1016.
- Malaga, H. (1990). Epidemiología Veterinaria. Editorial de la Universidad del Zulia. . 243 pp. Maracaibo, Venezuela.
- MARNR (1984). Ministerio de Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables. Características Agroecológicas y Potencial Agroeconómico del Edo. Monagas. 22-31. Maturín. Venezuela.
- Maxime, B. (1984). Manual de Patología Clínica en veterinaria. Editorial Limusa. . 421 pp. S. A. de C. V. México.
- Murray, M.; Dexter, T. M. (1988). Anaemia in bovine African trypanosomiasis. Acta Tropica. 45 : 389 - 432 .
- Osório, A. L.; Madruga, C. R.; Desquesnes, M.; Oliveira Soares, C.; Rios Ribeiro, L. R.; Goncalves da Costa, S. C. (2008). *Trypanosoma* (*Duttonella*) *vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World A Review. Memorias Instituto Oswaldo Cruz. 103(1): 1-13.
- Otte, M. (1992). La anaplasmosis y babesiosis bovina en Colombia. En: Intensificación del control de las enfermedades animales en Colombia. Santafé de Bogotá, Colombia. ICA-GTZ.
- Potgieter, F. T. (1979). Epizootiology

- and control of anaplasmosis in South Africa. Journal of the South African Association. 504:367-372.
- Radostits, Otto M.; Gay, Clive C.; Blood, Douglas C.; Hinchcliff, Kenneth W. (2004). Veterinary Medicine. (9th. ed.). 1877 pp. W. B. Saunders Company Ltd. Edinburgh.
- Reinbold, J.; Coetzee, J.; Hollys, L.; Nickell, J.; Riegel, C.; Ganta, R. (2010). Comparison of iatrogenic transmission of *Anaplasma marginale* in Holstein steers via needle and needle-free injection techniques. American Journal of Veterinary Research. 1: 1178-1188.
- Rey-Valeirón, C.; Aso, P.; Coronado, A. (2002). Evaluación de la anaplasmosis en becerros mestizos Holstein naturalmente infectados *marginale* y anticuerpos específicos en becerros neonatos y desafiadados con aislados hómologos y heterólogos de *Anaplasma marginale*. Revista Científica. FCV-LUZ. XIII (4): 269-278.
- Rey, C. (2004). Hemoparasitosis en América Latina: El Caso Venezuela. 5 pp. Red Electrónica de Garrapatas y Enfermedades Transmitidas por Garrapatas para América Latina y el Caribe. RedEctopar. Cuarta Conferencia Electrónica. Corpocia. FAO.
- Rivera, M. (1996). Hemoparasitosis Bovinas. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico UCV. 238 pp. Colección estudios. Caracas. Venezuela.
- SAS. (2001). SAS/STAT. User's guide. (Release 8.2). Universidad de Nebraska. EE.UU.
- Tamasaukas, R.; Roa, N. (1996). Trypanosomiasis bovina (*T. vivax*): una revisión. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 64 pp. Maracay, Venezuela.
- Toro, M.; Leon, E.; Pallota, F.; López, G.; García, J.; Ruiz, A. (1993). Prevalencia de las hemoparasitosis en bovinos del estado Guárico. Veterinaria Tropical. 8: 30-31.
- Woo, P.T.K. (1970). The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomes. Acta Tropical. 27: 384-386.