

# Alterações hematológicas e bioquímicas causadas por *Anaplasma marginale* em bovinos com aptidão leiteira da região Sudoeste do Paraná\*

## Changes hematological and biochemical caused by *Anaplasma marginale* in dairy cattle suitability of southwest region Paraná

Fábio Darlan Bernardo,\*\* Cleverson Conhizak,\*\*\* Francieli Ambrosini,\*\* Adolfo Firmino da Silva Neto,\*\*\*\*  
Fagner Luiz da Costa Freitas,\*\* Carina Franciscato\*\*\*\*

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi descrever as complicações hematológicas e bioquímicas em bovinos da região Sudoeste do Paraná infectados por *Anaplasma marginale*, comparando estas alterações com os parâmetros apresentados por bovinos sadios da mesma região. Foram avaliadas 40 vacas com aptidão leiteira, sendo 20 clinicamente suspeitas de estarem infectadas pelo parasito e outras 20 sadias, que serviram como grupo controle. O hemograma foi realizado em contador hematológico automático. Para a contagem diferencial de células brancas e pesquisa do agente realizou-se esfregaço sanguíneo. As análises de albumina, proteínas totais (PT), uréia, creatinina, aspartato-aminotransferase, e gama-glutamilttransferase séricas, foram realizadas em analisador bioquímico semi-automático. Os resultados obtidos foram avaliados através do programa SPSS, versão 20.0, sendo submetidos ao Teste t de Student. O diagnóstico foi realizado pela identificação do hemoparasito em esfregaço sanguíneo. Os animais infectados apresentaram uma parasitemia que variou de 11 a 20%. Constatou-se diferença estatística significativa ( $p < 0,01$ ), entre os seguintes parâmetros: hematócrito das infectadas ( $17,99 \pm 1,49\%$ ) e sadias ( $29,38 \pm 0,96$ ); número de hemácias das infectadas ( $3,71 \pm 0,39 \times 10^6/\mu\text{L}$ ) e sadias ( $7,23 \pm 0,37 \times 10^6/\mu\text{L}$ ); hemoglobina das infectadas ( $6,08 \pm 0,65\text{g/dL}$ ) e sadias ( $9,96 \pm 0,33\text{g/dL}$ ); VCM das infectadas ( $52,60 \pm 3,07\text{fL}$ ) e sadias ( $41,34 \pm 1,31\text{fL}$ ); monócitos das infectadas ( $1353,27 \pm 373,61/\mu\text{L}$ ) e sadias ( $517,84 \pm 113,22/\mu\text{L}$ ); PT (proteínas totais) das infectadas ( $7,60 \pm 0,18\text{g/dL}$ ) e sadias ( $5,90 \pm 0,28\text{g/dL}$ ). Os animais infectados apresentaram acentuada anemia e aumento sérico das PT. Conclui-se que estes hemoparasitos provocam monocitose e sinais clínicos graves decorrentes da anemia acentuada, porém não alteram os marcadores da função hepática e renal de bovinos na forma clínica de Anaplasmosse.

**Palavras-chave:** função hepática e renal, hemograma, Rickettsia.

### Abstract

The objective of this study was to describe the hematological and biochemical complications in cattle of southwestern Paraná region infected with *Anaplasma*, comparing these changes with the parameters presented by healthy cattle from the same region. We evaluated 40 cows with milk aptitude, 20 clinically suspected of being infected by the parasite and other 20 healthy, which served as a control group. Blood counts were performed in automated hematology counter. For the differential white cell count and agent search was held smears. Albumin analysis, total protein (TP), urea, creatinine, aspartate-aminotransferase and serum gamma-glutamyl transferase were carried out in semi-automatic biochemical analyzer. The results were evaluated using SPSS, version 20.0, and submitted to the Student t test. The diagnosis was made by identifying the hemoparasite in blood smears. Infected mice had a parasitemia ranging from 11 to 20%. We found statistically significant differences ( $p < 0.01$ ) among the following: hematocrit of infected ( $17,99 \pm 1,49\%$ ) and healthy controls ( $29,38 \pm 0,96\%$ ); number of red blood cells infected ( $3,71 \pm 0,39 \times 10^6/\mu\text{L}$ ) and healthy controls ( $7,23 \pm 0,37 \times 10^6/\mu\text{L}$ ); of infected hemoglobin ( $6,08 \pm 0,65\text{g/dL}$ ) and healthy controls ( $9,96 \pm 0,33\text{g/dL}$ ); VCM infected ( $52,60 \pm 3,07\text{fL}$ ) and healthy controls ( $41,34 \pm 1,31\text{fL}$ ); of infected monocytes ( $1353,27 \pm 373,61/\mu\text{L}$ ) and healthy controls ( $517,84 \pm 113,22/\mu\text{L}$ ); PT (total protein) of infected ( $7,60 \pm 0,18\text{g/dL}$ ) and healthy controls ( $5,90 \pm 0,28\text{g/dL}$ ). Infected animals showed marked anemia and serum increase in PT. We conclude that these blood parasites cause monocytosis and severe clinical signs resulting from severe anemia, but do not alter markers of liver and renal function of cattle in the clinical form of Anaplasmosis.

**Keywords:** Blood count, liver and kidney function, Rickettsia.

\*Recebido em 28 de agosto de 2015 e aceito em 7 de novembro de 2016.

\*\*Universidade Federal da Fronteira Sul, Departamento de Medicina Veterinária, Realeza, PR, Brasil.

\*\*\*Médico Veterinário Autônomo, Francisco Beltrão, PR, Brasil.

\*\*\*\*Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Medicina Veterinária, Juiz de Fora, MG, Brasil.

Autor para correspondência: Fábio Darlan Bernardo. E-mail: [fabiobernardo104@gmail.com](mailto:fabiobernardo104@gmail.com)

## Introdução

*Anaplasma marginale* é uma Rickettsia pertencente à ordem Rickettsiales (Aubry e Geale, 2011), que foi reorganizada em duas famílias: Anaplasmataceae e Rickettsiaceae (Dumler et al., 2001). É causador da Anaplasmosse em bovinos de áreas tropicais e subtropicais em várias regiões do mundo (Kocan et al., 2010; Ashuma et al., 2013).

Este agente é considerado um hemoparasito intraeritrocitário obrigatório (Aubry e Geale, 2011), sendo responsável pelo desenvolvimento de sinais clínicos como letargia, febre, anemia, icterícia, perda de peso, diminuição na produção de leite, e aborto (Vidotto e Marana, 2001; Kocan et al., 2010). As lesões orgânicas decorrentes da patogenia pioram conforme aumenta o tempo de infecção, devido a elevação progressiva da parasitemia (Aubry e Geale, 2011).

O aumento brusco da parasitemia na forma aguda evolui para anemia hemolítica e icterícia (De Uk et al., 2012). Suspeita-se que a série branca também possa sofrer alteração, pois em pequenos ruminantes infectados pelo hemoparasito *Babesia* sp. verifica-se a existência de neutrofilia e/ou linfocitose (Sulaiman et al., 2010; Esmailnejad et al., 2012), as quais estão relacionadas com a liberação de citocinas pró-inflamatórias (Stockham e Scott, 2011).

Em estudo realizado por Hornok et al. (2007) verificou-se lesão patológica no fígado e nos músculos de bovinos com Anaplasmosse, porém o mesmo não foi observado no rim. Outros autores (Allen et al., 1981; Coskun et al., 2012) mostraram elevação de Aspartato aminotransferase (AST) e Fosfatase alcalina (FA), o que reforça a possibilidade de lesão hepática.

Assim, há necessidade de maior exploração sobre as alterações sanguíneas causadas pela Anaplasmosse. Sendo que os parâmetros hematológicos e bioquímicos podem ser usados para avaliar a gravidade da enfermidade (Sulaiman et al., 2010; Coskun et al., 2012; Esmailnejad et al., 2012). Além disso, não há estudos sobre as alterações encontradas no hemograma e nos exames bioquímicos de bovinos naturalmente infectados por este hemoparasito na região Sudoeste do Paraná. Salienta-se que devido à genética de *A. marginale* e defesa imune dos animais, conforme as diferentes regiões geográficas, podem ocorrer diferenças na sua patogenicidade (Kocan et al., 2010).

Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas de bovinos naturalmente infectados por *Anaplasma marginale* na região Sudoeste do Paraná.

## Material e métodos

Os animais em estudo foram provenientes dos municípios Salto do Lontra, Nova Prata do Iguçu, Realeza e Francisco Beltrão, localizados no Sudoeste Paranaense. Os mesmos foram constituídos por 40 (quarenta) vacas com aptidão leiteira com idade variando de dois a oito anos. Sendo que 20 (vinte) representaram o grupo infectado, as quais apresentavam sinais clínicos sugestivos de Anaplasmosse; e as outras 20 apresentaram-se clinicamente saudáveis, servindo como grupo controle. Salienta-se que em todos os animais do estudo procedeu-se a realização do exame físico geral e o período da pesquisa (para coleta e processamento das amostras) foi de outubro a dezembro de 2013.

As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Realeza, Paraná. Para pesquisa dos hemoparasitos, amostras de sangue foram coletadas através da punção da veia marginal da orelha. As amostras sanguíneas para o hemograma e exames bioquímicos foram coletadas da veia jugular, com agulha de calibre tamanho 1,20 x 40mm. Para realização do hemograma coletou-se 5mL de sangue em tubo contendo anticoagulante EDTA, assim como recomendado por Jain (1993); para realização dos exames bioquímicos foram coletados 10mL de sangue sem anticoagulante para obtenção do soro, o qual foi obtido a partir da centrifugação a 5.000 rpm durante 10 minutos.

A estimativa da parasitemia dos animais (presença de hemoparasitos) foi realizada através do exame direto do agente no sangue dos mesmos. Os esfregaços sanguíneos foram corados em Panótico rápido. Após a coloração foi realizado o exame microscópico em 100 campos do esfregaço com objetiva de imersão (aumento de 1000x), conforme recomendado por Almosny (2002). Em cada esfregaço, a partir da contagem de 1000 hemácias estimou-se o número de hemácias parasitadas, o resultado foi expresso em porcentagem (%), assim como proposto por Vieira et al. (2001). Para o eritrograma, a contagem de hemácias e a determinação da concentração de hemoglobina foram realizadas em contador automático de células (Bio 2900 vet®), e para determinar o hematócrito o sangue foi processado por uma microcentrifuga (12.500 rpm durante 5 minutos); a proteína plasmática foi mensurada através de refratômetro; o VCM e CHCM foram calculados através das fórmulas hematócrito X 10 / número de hemácias e hematócrito / hemoglobina X 100, respectivamente, para determinar o tipo de anemia apresentada pelo animal. Para o leucograma, a contagem de leucócitos totais foi realizada em contador automático de células (Bio 2900 vet®), e o diferencial de leucócitos foi realizado em esfregaço sanguíneo corado em Panótico rápido.

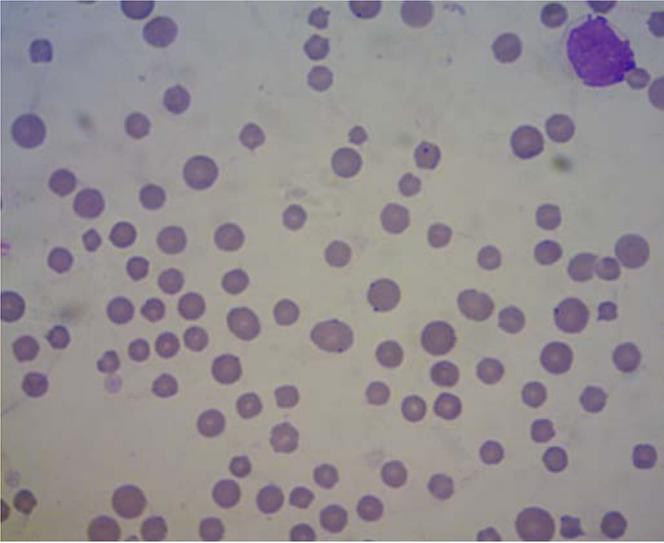
As amostras de soro foram submetidas ao exame bioquímico através do método cinético ou colorimétrico, em aparelho semiautomático de bioquímica, onde foram mensuradas as enzimas aspartato aminotransferase (AST), gama glutamil transferase (GGT), além de proteína total (PT) e albumina para verificar possíveis alterações hepáticas; e os metabólitos uréia e creatinina para verificar a função renal dos animais.

Os valores dos hemogramas e exames bioquímicos dos animais clinicamente infectados com *A. marginale* foram comparados com os seus controles. O estudo estatístico dos dados foi realizado através do Teste T de Student, para comparação entre os dois grupos, utilizando-se programa estatístico SPSS, versão 20.0.

O estudo foi protocolado (protocolo nº23205.002072/2013-77) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição de origem.

## Resultados e discussão

O exame de esfregaço sanguíneo mostrou-se eficiente para a identificação dos agentes causadores da Anaplasmosse em sua forma clínica. Os 20 animais infectados demonstraram hemácias contendo pequenos pontos esféricos e escuros de localização periférica, condizentes com os corpúsculos intraeritrocitários formados pela Rickettsia (Thrall, 2007) (Figura 1). Também



**Figura 1:** Esfregaço sanguíneo evidenciando corpúsculos intraeritrocitários condizentes com *Anaplasma marginale* (setas). Também se observa anisocitose e policromasia. Aumento de 1000x.

verificou-se anisocitose e policromasia (Figura 1), corroborando com um processo regenerativo dos eritrócitos na medula óssea (Meyer et al., 1995).

Estudos têm demonstrado que os sinais clínicos da anaplasmose somente são observados após a parasitemia ultrapassar 15% (Radostits et al., 2007), e que na fase aguda da doença a parasitemia pode variar de 15% a 48% (Alfonso et al., 1996). Entretanto, nos bovinos do presente estudo, verificou-se acentuada anemia e desenvolvimento de sinais clínicos relacionados a esta já com 11% de hemácias infectadas.

Os sinais clínicos apresentados pelos animais positivos para *A. marginale* foram acentuada apatia e prostração, conforme descrito por Gonçalves et al. (2005), Rodrigues et al. (2005), Kocan et al. (2010), Coskun et al. (2012); taquicardia e taquipneia (média de 100 batimentos cardíacos/min e 60 movimentos respiratórios/min, respectivamente), sendo consideradas como mecanismos compensatórios para prevenir as lesões teciduais decorrentes da hipoxemia (Sulaiman et al., 2010); icterícia, que foi associada com a hemólise extravascular (Kocan et al., 2010); e febre (com temperatura retal média de 40°C).

No eritrograma observou-se diminuição significativa ( $p < 0,01$ ) do total de hemácias, hemoglobina e hematócrito (Tabela 1), evidenciando a gravidade da anemia provocada pelo agente.

Tais reduções foram superiores às observadas por Coskun et al. (2012). Salienta-se que a destruição intracelular das hemácias infectadas pelo agente ocorre principalmente no baço, mas também é descrita a participação do sistema reticuloendotelial do fígado. Após a fagocitose dos eritrócitos pelos macrófagos, nesses compartimentos, há redução no número de hemácias circulantes, podendo ultrapassar o limiar de compensação da medula óssea, o que explica a redução do hematócrito e da hemoglobina (Almosny, 2002; Thrall, 2007).

A anemia dos animais em análise foi classificada como macrocítica normocrômica devido, respectivamente, à elevação significativa do VCM ( $p < 0,05$ ) e à não alteração do CHCM. A mesma foi considerada como regenerativa devido ao aumento do VCM, associado à anisocitose e policromasia. Em contrapartida, outros autores (Jain, 1993; Esmailnejad et al., 2012) descreveram a anemia causada por hemoparasitos como macrocítica hipocrômica. Porém, neste caso, o CHCM não sofreu alteração, o que sugere que os animais parasitados conseguiram compensar com a produção de hemácias jovens sem diminuição relevante na concentração de hemoglobina (Meyer et al., 1995).

No leucograma, o número total de leucócitos permaneceu sem alteração significativa. Porém ocorreu monocitose devido ao aumento significativo ( $p < 0,05$ ) dos monócitos. O que pode ser consequência da liberação de citocinas pró-inflamatórias pelos

**Tabela 1:** Níveis hematológicos e bioquímicos dos animais infectados e sadios ( $X \pm Sx$ )

Parâmetros	Bovinos Infectados (n=20)	Bovinos Sadios (n=20)	Valores de Referência
Hemácias	3,71±0,39	7,23±0,37 **	5 – 10 ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ) <sup>a</sup>
Hemoglobina	6,08±0,65	9,96±0,33 **	8 – 15 (g/dl) <sup>a</sup>
Hematócrito	17,99±1,49	29,38±0,96 **	24 – 46 (%) <sup>a</sup>
VCM <sup>1</sup>	52,60±3,07	41,34±1,31 **	40 – 60 (fL) <sup>a</sup>
CHCM <sup>2</sup>	34,57±1,02	33,87±0,37	30 – 36 (%) <sup>a</sup>
Leucócitos Totais	14420±2324,78	10861,53±839,07	4.000 – 12.000/ $\mu\text{L}$ <sup>a</sup>
Linfócitos	6754,90±867,02	6423,92±744,41	2.500 – 7.500/ $\mu\text{L}$ <sup>a</sup>
Neutrófilos segmentados	5794,45±1836,92	3116,76±188,81	600 – 4.000/ $\mu\text{L}$ <sup>a</sup>
Monócitos	1353,27±373,61	517,84±113,22 *	25 – 840/ $\mu\text{L}$ <sup>a</sup>
Eosinófilos	825,65±257,47	803,00±166,07	0 – 2.400/ $\mu\text{L}$ <sup>a</sup>
Bastonetes	69,50±41,50	0,00	0 – 120/ $\mu\text{L}$ <sup>a</sup>
AST	102,09±10,83	102,15±6,25	48 – 100 (UI/L) <sup>b</sup>
GGT	40,63±9,99	33,74±1,65	6,1 – 17,4 (UI/L) <sup>c</sup>
Albumina	2,74±0,13	2,61±0,07	3,03 – 3,55 (g/dl) <sup>d</sup>
Proteína Total	7,60±0,18	5,90±0,28 **	6,7 – 7,4 (g/dl) <sup>d</sup>
Uréia	47,75±7,03	50,75±2,29	20 – 30 (mg/dl) <sup>d</sup>
Creatinina	1,20±0,14	0,96±0,02	1 – 2 (mg/dl) <sup>d</sup>

<sup>1</sup>Volume corpuscular médio; <sup>2</sup>Concentração média de hemoglobina.

<sup>a</sup>Jain (1993); <sup>b</sup>Meyer e Harvey (1998); <sup>c</sup>Kaneko et al. (1997); <sup>d</sup>Meyer et al. (1995)

Os dados são apresentados como médias  $\pm$  SE.

Asterisco (\*) para valores médios significativamente diferentes (\*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ )

macrófagos ativados (Sulaiman et al., 2010; Esmailnejad et al., 2012). Porém, esses mesmos autores reforçam a ocorrência de neutrofilia e linfocitose associadas, as quais não

foram observadas no estudo. Questiona-se esse aspecto, pois como descrito por Stockham e Scott (2011), tanto a linhagem polimorfonuclear como mononuclear são ativadas na medula óssea. Acredita-se que o estímulo antigênico possa ter sido mais específico sobre a linhagem monocítica até mesmo porque há uma maior demanda dessas células para o mecanismo de eritrofaocitose (Meyer et al., 1995; Thrall et al., 2007).

Quanto à bioquímica sérica, na avaliação da função renal os valores de ureia e creatinina não sofreram alteração significativa quando comparados ao grupo controle (Tabela 1). Este resultado não está de acordo com Coskun et al. (2012), os quais encontraram elevação significativa de creatinina em bovinos naturalmente infectados por *A. marginale* mesmo apresentando hematócrito e concentração de hemácias superiores ao presente estudo. Desta forma, acredita-se que os bovinos acometidos demonstraram uma maior resistência ao processo de hipoxemia.

Na avaliação da função hepática, os valores séricos de AST e GGT também não apresentaram alteração significativa (Tabela 1). O que está em desacordo com os resultados achados por Gonçalves et al. (2005) e de Coskun et al. (2012), que encontraram elevação de AST, Fosfatase Alcalina (FA) e GGT em bovinos naturalmente infectados por *A. marginale*, que pode estar relacionado com a lesão hepática tanto em nível de hepatócitos quanto canalicular (Meyer et al., 1995).

Já a proteína total aumentou significativamente ( $p < 0,01$ ) nos animais parasitados (Tabela 1), o que poderia estar relacionado com o estímulo antigênico do hemoparasito, com elevação subsequente da concentração de globulinas no sangue, como

observado por Sulaiman et al. (2010) e Esmailnejad et al. (2012), as quais fazem parte de uma das frações da proteína total (Thrall, 2007). A hemoconcentração por desidratação nos animais infectados pode contribuir para seu aumento (Meyer et al., 1995).

As variações observadas nos valores séricos dos marcadores da função renal e hepática (apesar de não significativas), entre os dois grupos, podem estar relacionadas com a diferença de nutrição, manejo e genética entre os bovinos em estudo (Campos et al., 2005).

Ressalta-se que este estudo possui importância epidemiológica por ser o primeiro a identificar a *Rickettsia* na região Sudoeste do Paraná. Além disso, reforça a importância do diagnóstico laboratorial e exames hematológicos/bioquímicos, para o diagnóstico do agente e avaliação das lesões orgânicas, respectivamente.

## Conclusão

Com base nos sinais clínicos, na parasitemia e nas alterações da série vermelha do sangue conclui-se que *A. marginale* da região possui virulência para reproduzir o quadro clínico da Anaplasmoze em bovinos adultos. Por isso, esta enfermidade pode ser considerada de risco para a bovinocultura de leite do Sudoeste do Paraná.

O agente não causou complicações nos parâmetros de avaliação da função hepática e renal, mesmo os animais infectados desenvolverem anemia grave. Condição que foi relacionada com a maior tolerância à anemia pelos bovinos.

## Referências

- ALFONSO, J.; MEDINA, R.; FAZZINO, F.; CABALLERO, H. Clinical and hematological change in calves infected with *Anaplasma marginale*. *Acta Científica Venezolana*, v. 47, n.1, p. 50-57, 1996.
- ALLEN, P.C.; KUTTLER, K.L.; AMERAULT, B.S. Clinical chemistry of anaplasmosis: Blood chemical changes in infected mature cows. *American Journal of Veterinary Research*, v. 42, p. 322-325, 1981.
- ALMOSNY, N.R.P. *Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos e como Zoonoses*. Rio de Janeiro: L.F.Livros, 2002, 135 p.
- ASHUMA; SHARMA, A.; SINGLA, L.D.; KAUR, P.; BAL, M.S.; BATTI, B.K.; JUYAL, P.D. Prevalence and haemato-biochemical profile of *Anaplasma marginale* infection in dairy animals of Punjab (India). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 6, n. 2, p. 139-144, 2013.
- AUBRY, P.; GEALE, D.W. A Review of Bovine Anaplasmosis. *Transboundary Emerging Diseases*, v. 58, p.1-30, 2011.
- CAMPOS, R.; LACERDA, L.A.; TERRA, S.R.; GONZÁLEZ, F.H.D. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 45, n. 5, p. 354 - 361, 2005.
- COSKUN, A.; EKICI, O.D.; GÜZELBEKTES, H.; AYDOĞDU, U.; SEN, I. Acute Phase Proteins, Clinical, Hematological and Biochemical Parameters in Dairy Cows Naturally Infected with *Anaplasma marginale*. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, v. 18, n. 3, p. 497-502, 2012.
- DE U.K.; DEY, S.; BANERJEE, P.S.; SAHOO, M. Correlations among *Anaplasma marginale* parasitemia and markers of oxidative stress in crossbred calves. *Tropical Animal Health*, v. 44, n. 3, p. 385-388, 2012.
- DUMLER, J.S.; BARBET, A.F.; BEKKER, C.P.; DASCH, G.A.; PALMER, G.H.; RAY, S.C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F.R. 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 *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and HGE agent as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophilum*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.
- ESMAEILNEJAD, B.; TAVASSOLI, M.; ASRI-REZAEI, S. Investigation of hematological and biochemical parameters in small ruminants naturally infected with *Babesia ovis*. *Veterinary Research Forum*, v. 3, p. 31-36, 2012.
- GONÇALVES, R.C.; SILVA, D.P.G.; CHIACCHIO, S.B.; BORGES, A.S.; AMORIM, R.M.; BANDARRA, E.P.; TAKAHIRA, R.K. Anaplasmoze Neonatal em bezerro. *Veterinária Notícias*, v. 11, n. 1, p. 95-98, 2005.
- HORNOK, S.; ELEK, V.; DE LA FUENTE, J.; NARANJO, V.; FARKAS, R.; MAJOROS, G.; FÖLDVARI, G. First serological and molecular evidence on the endemicity of *Anaplasma ovis* and *A. marginale* in Hungary. *Veterinary Microbiology*, v.122, p. 316-322, 2007.
- JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417 p.

- KANEKO, J.J.; HARVEY, D.W.; BRUSS, W.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6. ed. San Diego: Academic Press, 1997, 932 p.
- KOCAN, K.M.; FUENTE, J.; BLOUIN, E.F.; COETZEE, J.F.; EWING, S.A. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*, v.167, n. 2-4, p. 95-107, 2010.
- MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. *Medicina de Laboratório Veterinária*. São Paulo: Roca, 1995, 308 p.
- MEYER, D.J.; HARVEY, J.W.; *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998, 372 p.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*. Elsevier: Saunders, 2007, 2065 p.
- RODRIGUES, A.; RECH, R. R.; BARROS, R. R.; FIGHERA, R. A.; BARROS, C. S. L. Babesiose cerebral em bovinos: 20 casos. *Ciência Rural*, v. 35, p. 121-135, 2005.
- STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. *Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, 729 p.
- SULAIMAN, E.G.; ARSLAN, S.H.; AL-OBAIDI, Q.T.; DAHAM, E. Clinical, haematological and biochemical studies of babesiosis in native goats in Mosul. *Iraq Journal of Veterinary Sciences*, v. 24, n. 1, p. 31-35, 2010.
- THRALL, M.A. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Roca, 2007, 582 p.
- VIDOTTO, O.; MARANA, E. R. M. Diagnóstico em anaplasmoose bovina. *Ciência Rural*, v. 31, n. 2, p. 361-368, 2001.
- VIEIRA, D.; MENDONÇA, C.L.; KOHAYAGAWA, A.; MADRUGA, C.R.; SCHENKI, M.A.; KESSLER, R. Avaliações da parasitemia, do hematócrito e dos níveis bioquímicos séricos, de bezerras nelore (*Bos indicus*), inoculados com isolados de *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) das regiões sul, sudeste, centro-oeste, nordeste e norte do Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, v. 2, n. 2, p. 101-109, 2001.