

## Artículo de investigación

# Efficacy of the association oxitetraciclina – isometamidium on the control of bovine anaplasmosis and tripanosomosis

*Eficacia de la asociación oxitetraciclina - isometamidium en el control de anaplasmosis y tripanosomosis bovina*

*Eficácia da associacao oxitetraciclina-isometamidium no controle da anaplasmosose e tripanosomose bovina*

Jesús Antonio Betancourt Echeverri <sup>1\*</sup>, MVZ Ph.D. ✉; Gustavo López Valencia <sup>2</sup>, MV MSc; Gustavo Alonso López Sierra <sup>3</sup>, Filosof – Sociol MSc; Elias Ascanio Evanoff <sup>4</sup>, MV Ph.D.; William Berrío Cataño <sup>5</sup>, Esp Ger. Proy.; Jorge Gómez Oquendo <sup>6</sup>, MV; Andrés Felipe Velásquez Arboleda <sup>7</sup>, Ing. Agrop

## Fecha correspondencia:

Recibido: 1 de junio de 2020.

Aceptado: 27 de agosto de 2020.

## Forma de citar:

Betancourt Echeverri JA, López Valencia G, López Sierra GA, Ascanio Evanoff E, Berrío Cataño W, Gómez Oquendo J, Velásquez Arboleda AF. Eficacia de la asociación oxitetraciclina - isometamidium en el control de anaplasmosis y tripanosomosis bovina. Rev. CES Med. Zootec, 2020; Vol 15 (2): 49-63.

[Open access](#)

[© Copyright](#)

[Creative commons](#)

[Ethics of publications](#)

[Peer review](#)

[Open Journal System](#)

DOI: [http://dx.doi.org/10.21615/](http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.15.2.4)

[cesmvz.15.2.4](#)

ISSN 1900-9607

Comparte



## Abstract

**Objective.** To evaluate the efficacy of the association Isometamidium Chloride + Oxytetracycline Hydrochloride (Isopan® Reveex Laboratories, Venezuela) on the control of infections by *Trypanosoma vivax* and *Anaplasma marginale* in bovine. **Materials and methods.** Twelve one-year old heifers were randomly assigned to two groups of six animals each. Heifers on one group were each inoculated intravenously with 10 mL of blood showing a 3.5% parasitemia with *Anaplasma marginale* on stained blood smears. Heifers in the other group were inoculated intravenously with five mL of blood containing a field strain of *T. vivax* with a parasitemia of 3 flagellates per microscopic field in a stained blood smear. In all heifers, rectal temperature, haematocrit and parasitemia were monitored daily or every other day until days 49 post inoculation and 27 post treatment in the case of *A. marginale* and 11 post inoculation and 21 post treatment in the case of *T. vivax*. **Results.** The association oxitetraciclina-isometamidium was 100% efficacious against *T. vivax* from day one after administration and until the 21th experimental day. The association showed an average efficacy of 75.59% against *A. marginale*, though four heifers required a second treatment against *Anaplasma* between days 10 and 27 after treatment. **Conclusions.** The association Oxitetraciclina – isometamidium showed a 100% efficacy against *T. vivax* and an average of 75.59% efficacy against *A. marginale* but did not prevent a second anaplasmosis episode between days 10 and 27 following the first treatment.

**Keywords:** bovine, field, haemoparasites, chemotherapy.

## Resumen

**Objetivo:** evaluar la eficacia de la asociación cloruro de isometamidium + clorhidrato de oxitetraciclina (Isopan® Laboratorio Reveex de Venezuela) en el control de infecciones por *Trypanosoma vivax* y *Anaplasma marginale* en

**Filiación:**

\*Autor para correspondencia:  
Jesús Antonio Betancourt.  
Correo electrónico:  
jesantbet@yahoo.com

1. Grupo GIEM Escuela de Microbiología y Bioanálisis, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Carrera 32 No. 29-31.

2. Investigador independiente.

3. Grupo GSBPO, Chile.

4. Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Central de Venezuela, Investigación y Desarrollo Reveex Group.

5, 6, 7. Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid.

bovinos. Materiales y métodos: doce bovinos de aproximadamente un año de edad fueron asignados al azar, a dos grupos de seis animales cada uno. Un grupo fue inoculado por vía venosa con 10 mL de sangre con una parasitemia de 3,5% de *Anaplasma marginale* en extendido sanguíneo coloreado; el segundo grupo se inoculó, por la misma vía, con cinco mL de sangre de una cepa de campo de *Trypanosoma vivax* con una parasitemia de tres flagelados por campo en un frotis sanguíneo delgado coloreado. En todas las terneras, la temperatura rectal, el hematocrito y la parasitemia fueron registrados con frecuencia diaria o inter-diaria hasta los días 49 posinoculación y 27 postratamiento en el caso de *A. marginale* y hasta los días 11 posinoculación y 21 postratamiento en el caso de *T. vivax*. Resultados: La asociación oxitetraciclina-isometamidium fue 100% eficaz contra *Trypanosoma vivax* desde un día después de su aplicación y por el término de 29 días experimentales. La asociación tuvo una eficacia promedio contra *Anaplasma marginale* de 75,59% aunque cuatro de las terneras requirieron un segundo tratamiento contra *Anaplasma* entre los días 10 y 27 después del tratamiento. Conclusiones: La asociación oxitetraciclina - isometamidium mostró una eficacia de 100% contra *Trypanosoma vivax* y de 75,59% en promedio, contra *Anaplasma marginale*, aunque no previno un nuevo episodio de anaplasmosis entre los días 10 y 27 después del tratamiento.

**Palabras clave:** bovinos, campo, hemoparásitos, quimioterapia.

**Resumo**

Objetivo: avaliar a eficácia da associação cloreto de isometamidio + cloridrato de oxitetraciclina (Isopan® Laboratorio Reveex de Venezuela) no controle de infecções por *Trypanosoma vivax* e *Anaplasma marginale* em bovinos. Materiais e métodos: Doze bovinos de aproximadamente 1 ano de idade foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de 6 animais cada. Um grupo foi inoculado por via venosa com 10 mL de sangue com parasitemia de *Anaplasma marginale* de 3,5% em esfregaço de sangue corado; o segundo grupo foi inoculado, pela mesma via, com cinco mL de sangue de uma cepa de *Trypanosoma vivax* com parasitemia de três flagelados por campo em esfregaço de cor fina. Em todos os bezerros, temperatura retal, hematócrito e parasitemia foram registrados diariamente ou inter-diariamente até os dias 49 pós-inoculação e 27 pós-tratamento no caso de *A. marginale* e até os dias 11 pós-inoculação e 21 pós-tratamento no caso de *A. de T. vivax*. Resultados: A associação oxitetraciclina-isometamídio foi 100% eficaz contra o *Trypanosoma vivax* um dia após sua aplicação e pelo prazo de 29 dias experimentais. A associação teve uma eficácia média contra o *Anaplasma marginale* de 75,59%, embora quatro dos bezerros precisassem de um segundo tratamento contra o *Anaplasma* entre os dias 10 e 27 após o tratamento. Conclusões: A associação oxitetraciclina-isometamídio mostrou eficácia de 100% contra *Trypanosoma vivax* e 75,59% em média contra *Anaplasma marginale*, embora não tenha prevenido novo episódio de anaplasmosose entre os dias 10 e 27 após o tratamento.

**Palavras chave:** gado, campo, hemoparasitas, quimioterapia.

**Introducción**

Las enfermedades hemoparasitarias constituyen uno de los más frecuentes e importantes factores que afectan la productividad de la ganadería bovina. En el período 2004 – 2009, en los Centros de Diagnóstico Veterinario del ICA en Colombia, un 69% de las solicitudes se orientaron hacia las hemoparasitosis<sup>14</sup>. Se estima que las pérdidas económicas solamente por anaplasmosis y babesiosis a nivel mundial,

ascienden a US\$ 2,5 billones/año y en Sur América a US\$ 800 millones/año<sup>26</sup>. Otras fuentes, sin embargo, consideran que, solamente la tripanosomosis bovina en el llamado “Cinturón de la Mosca Tsé-Tsé en África, causa pérdidas por US\$ 4,75 billones al año<sup>13</sup>. En Colombia, la tripanosomosis bovina es causada por el *Trypanosoma vivax* y es considerada endémica en regiones como la Costa Atlántica, los valles de los ríos Cauca y Magdalena y los Llanos Orientales, en zonas situadas por debajo de los 1500 m.s.n.m.<sup>27</sup>. En el período 2005-2009, de 12.881 muestras de sangre bovina remitidas a los Centros de Diagnóstico del ICA, 34% fueron positivas para tripanosomas, presumiblemente *T. vivax*<sup>14</sup>. En el bajo Cauca antioqueño, en el período 2000-2005, se reportó una prevalencia del parásito en bovinos, de 33,3%<sup>16</sup>. Recientemente, el parásito fue reportado en Antioquia a 2486 m.s.n.m.<sup>29</sup>. Revisiones sobre *T. vivax* en África y en Colombia, han sido publicadas en los años 2015 y 2018, respectivamente<sup>7,10</sup>.

La anaplasmosis bovina tiene una amplia distribución en Colombia. En el Departamento de Antioquia, *A. marginale* fue hallado en 59,3% de las muestras bovinas examinadas<sup>14</sup>. En general, en zonas bajas y cálidas, la prevalencia de este parásito es alta. Un estudio realizado en el Departamento de Córdoba, reveló que, de 2909 extendidos sanguíneos bovinos examinados, 31,7% eran positivos para este parásito<sup>18</sup>.

El control de la tripanosomosis bovina se ha realizado principalmente con el empleo de Diaceturato de 4,4 diazoaminodibenzamidina (Diaceturato) o del Cloruro de Iso-metamidium. En África, se emplea, además de estos dos compuestos, el Homidium, tanto en su forma de bromuro como de cloruro<sup>19</sup>.

El control de la anaplasmosis bovina, tradicionalmente se ha realizado con clorhidrato de oxitetraciclina. Igualmente, el Dipropionato de Imidocarb, el cual también tiene acción contra *Babesia* sp., se emplea en el control del parásito; existen también unos pocos reportes sobre el uso de enrofloxacina en el tratamiento de la anaplasmosis bovina<sup>5,8</sup>.

Aunque en el mercado colombiano existen compuestos que contienen tanto el Diaceturato como la Oxitetraciclina para el control de episodios clínicos de hemoparasitismo en bovinos<sup>4</sup>, no se ha registrado compuesto alguno combinando el Isometamidium con la Oxitetraciclina, el cual sería de utilidad en el control de episodios clínicos de tripanosomosis por *T. vivax* al tiempo que bloquea el *A. marginale*, el cual suele acompañar al flagelado en infecciones mixtas. Reveex Laboratorios ha desarrollado el compuesto Isopan® el cual contiene los fármacos mencionados. El presente trabajo evaluó la eficacia del compuesto, contra infecciones por *T. vivax* y *A. marginale*, en condiciones de campo.

## Materiales y métodos

### Sitio de estudio

El estudio se realizó en las instalaciones de la granja Román Gómez Gómez del Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid localizado en el municipio de Marinilla en el departamento de Antioquia, con una altura sobre el nivel del mar de 2.150 metros, temperatura promedio 18 °C con unas coordenadas 6°11'47''N; 75°20'0''W. La evaluación se efectuó previa aprobación por parte del ICA para la importación del compuesto Isopan®, al igual que para la realización de la Prueba de Campo (Documento No. 20182113862 de julio 20 de 2018). Así mismo, la Prueba contó con el Aval del Comité de Ética del Politécnico en su Sesión Ordinaria de julio 27 de 2018, en la categoría de “Riesgo Mayor al Mínimo” según se expresa en el Documento

201801005438, comunicado en julio 30 de 2018. Durante el periodo experimental, los animales permanecieron estabulados en corrales enmallados para impedir la entrada de dípteros o arácnidos y durante el estudio recibieron concentrado (2 kg/animal/día), heno y agua a voluntad de acuerdo con las instrucciones del Comité de Ética del Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid.

### **Fármacos empleados**

El producto Isopan® utilizado es una mezcla de isometamidium (10 mg/mL), Clorhidrato de Oxitetraciclina (280 mg/mL) y antipirina (150mg/mL) aplicado por vía intramuscular a la dosis de 1mL/20 k de peso corporal lo cual equivale a 0,5 mg/kg de isometamidium y 14 mk/kg de Oxitetraciclina. El producto está indicado para ser usado en ganado bovino para el tratamiento y prevención de la tripanosomosis con un período de protección de dos a seis meses; además tiene un efecto curativo contra la anaplasmosis Bovina.

### **Objetivo**

Evaluar la eficacia de la asociación Oxitetraciclina - Isometamidium en el control de infecciones con *Trypanosoma vivax* y *Anaplasma marginale* en bovinos confinados.

### **Organismos experimentales**

La cepa de *A. marginale* empleada en el estudio fue obtenida de un bovino del hato del Politécnico que sufrió un episodio de anaplasmosis y la cepa de *Trypanosoma vivax* fue obtenida originalmente de un bovino que presentó tripanosomosis en una finca en Puerto Berrío, Antioquia.

### **Animales experimentales**

Doce hembras Holstein de aproximadamente 8 meses de edad fueron asignadas al azar a dos grupos, A y B de 6 animales cada uno. En el grupo A, cada ternera fue inoculada por vía intravenosa (IV) con 10 ml de sangre adicionada de Ethylene Diamino Tetracetic Acid (EDTA) como anticoagulante (K2 EDTA, BD), conteniendo la cepa de *A. marginale* previamente multiplicada en una ternera intacta y que al momento de la inoculación presentaba una parasitemia de 3,5% en un extendido sanguíneo coloreado con Giemsa, lo cual equivale a un inóculo total aproximado de  $1,4 \times 10^6$  anaplasmas para cada ternera. Las muestras de sangre fueron siempre obtenidas de la vena yugular y adicionadas de anticoagulante en la forma descrita. En el grupo B, Cada ternera fue inoculada vía IV, con la cepa de *T. vivax* previamente multiplicada también en una ternera intacta y en cuya sangre se observaban tres tripanosomas/campo microscópico (100X) de un extendido sanguíneo coloreado con Giemsa. La sangre de la ternera tenía un conteo de 7320 glóbulos blancos por ml y al examen se observaron 150 tripanosomas por cada 250 glóbulos blancos en 50 campos microscópicos. Lo anterior significa que, en cada inóculo de 5 ml de sangre, había una población estimada de  $2,19 \times 10^4$  tripanosomas. Antes de la inoculación con los parásitos, cada ternera fue inyectada vía intramuscular con dexametasona, vía intramuscular (IM) a la dosis de 0,1 mg/kg de peso por tres días consecutivos.

### **Tratamiento**

Una vez se configuró un caso clínico (parasitemia y fiebre, manifiestas), los bovinos de cada grupo fueron tratados vía IM con una dosis única del compuesto de 0,5 mg/kg de isometamidium y 14 mg/kg de oxitetraciclina (en la práctica 1 ml / 20 kg de peso de la asociación mencionada).

### Seguimiento

En todos los bovinos se realizó seguimiento a la temperatura rectal, la parasitemia y el hematocrito tanto en la fase post inoculación (PI), como en el período post tratamiento (PT). En el caso de *A. marginale* las tres variables fueron, en términos generales, registradas en forma diaria o interdiaria en el período PI a partir del día 17 y hasta el día 49, siendo más frecuente cuando la temperatura y/o la parasitemia estaban asociadas con un episodio clínico. La parasitemia con esta rickettsia se calculó contando el número de glóbulos rojos parasitados (en 20 campos microscópicos con objetivo de 100X) y relacionándolo porcentualmente con el número total de glóbulos rojos observados en los campos y se aplicó la fórmula descrita por Benavides<sup>4</sup> así:

$$\text{Parasitemia (\%)} = [(\text{GRP en 20 campos} / \text{Eritrocitos en 20 campos})] \times 100.$$

Dónde: GRP = Glóbulos Rojos Parasitados.

En el período PT, los parámetros mencionados fueron seguidos diariamente (especialmente en los primeros 18 días PT) hasta el día 27 PT. En el caso de *T. vivax*, tanto la temperatura rectal como la parasitemia y el hematocrito fueron registrados desde el día 7 hasta el día 11 PI; en el caso de este flagelado, se empleó además la prueba de Woo<sup>28</sup> para detectar el parásito. Después del tratamiento, estas variables fueron monitoreadas diariamente en los primeros ocho días PT y luego con menos frecuencia hasta el día 21 PT.

### Eficacia

La eficacia del compuesto Isopan<sup>®</sup> en el tratamiento de las infecciones con *A. marginale* y *T. vivax*, se calculó relacionando porcentualmente la parasitemia en el día del tratamiento (DT), con la parasitemia promedio de los ocho días siguientes al mismo. En el caso de *A. marginale* la parasitemia se expresó en términos de porcentaje de glóbulos rojos parasitados en 20 campos microscópicos con objetivo 100X (Véase Benavides<sup>4</sup>), mientras que en el caso de *T. vivax*, se expresó como el número de tripanosomas por campo microscópico (100X) en un extendido sanguíneo coloreado con Giemsa. En ambos casos la fórmula de Eficacia (E%) empleada fue la siguiente:

$$E (\%) = [(\text{PA} - \text{Promedio PD}) / \text{PA}] \times 100$$

Donde: PA = Parasitemia antes del tratamiento; PD = Parasitemia Promedio después del tratamiento.

### Estadística

Los valores obtenidos de temperatura, parasitemia y hematocrito, antes y después del tratamiento fueron comparados mediante la Prueba de "t". Se trabajó con un nivel de significancia de 0,05 (error 5%) y todos los cálculos se realizaron con ayuda del programa STATA<sup>1</sup>.

## Resultados

### *Anaplasma marginale*

Los resultados del seguimiento clínico, hematológico y parasitológico en los bovinos experimentales durante el período PI, se presentan en las tablas 1 a 3. Uno de los bovinos inoculados, se mostró totalmente refractario a la infección clínica y debió ser eliminado del grupo. En general, la fiebre y el descenso en el hematocrito, coincidie-

ron con la parasitemia. El seguimiento a este último parámetro permitió establecer que el período prepatente estuvo entre 17 y 22 días PI. La figura 1, muestra una alta parasitemia con *A. marginale* en un extendido sanguíneo coloreado de uno de los bovinos experimentales.

**Tabla 1.** Seguimiento de la temperatura (°C) en bovinos inoculados con *Anaplasma marginale* en los días siguientes a la inoculación (PI).

Bovino número	Días posinoculación (PI)															
	6	7	16	17	18	19	21	23	26	28	32	33	35	36	39	49
413	38,7	38,8	38,7	39,4	38,5	-	38,6	-	38,5	38,2	38,5	38,5	38,2	39,5	39,6	-
414	-	-	-	38,3	38,8	38,0	38,2	38,9	38,2	38,2	38,7	40,5	41,0	40,2	38,8	39,1
416	-	-	-	38,2	39,2	-	40,1	39,5	38,7	38,8	38,6	40,6	40,9	40,5	38,9	38,4
9712	-	-	-	40,4	38,2	-	37,7	-	38,6	38,6	38,6	38,8	38,9	38,7	38,7	38,4
9714	-	-	-	40,3	38,2	-	38,7	-	38,1	38,4	38,4	38,7	40,1	38,6	38,8	-

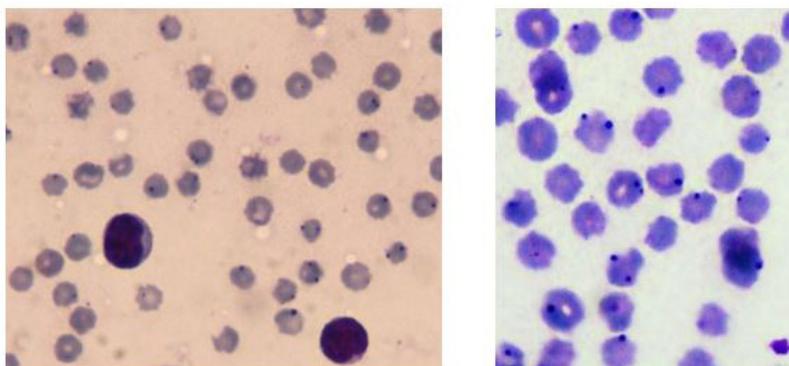
**Tabla 2.** Seguimiento de la parasitemia (%) en bovinos inoculados con *Anaplasma marginale*, en los días siguientes a la inoculación (PI).

Bovino número	Días posinoculación (PI)										
	17	18	20	22	25	27	31	32	36	46	
413	-	-	-	3,5	-	-	-	-	-	-	
414	0,65	0,3	0,78	0,23	0,39	0,47	1,0	1,5	0,27	0,25	
416	n.s.o*	0,79	2,9	-	0,23	0,17	0,07	0,15	n.s.o.	n.s.o.	
9712	13	3,8	0,41	-	0,4	1,3	2,4	-	0,3	n.s.o.	
9714	2,08	0,65	0,68	n.s.o.	0,2	0,14	0,24	0,24	0,61	0,25	

\*=no se observan

**Tabla 3.** Seguimiento del hematocrito (%) en bovinos inoculados con *Anaplasma marginale*, en los días siguientes a la inoculación (PI).

Bovino número	Días posinoculación (PI)												
	17	18	21	23	24	26	28	32	33	35	39	49	
413	-	-	-	-	-	18	-	-	-	-	-	-	
414	35	30	30	31	35	34	34	34	28	26	32	36	
416	35	35	24	20	23	28	30	30	31	27	37	32	
9712	25	25	25	-	-	30	30	30	23	23	35	33	
9714	23	28	31	-	-	35	32	30	-	26	25	31	



**Figura 1.** Frotis de sangre con glóbulos parasitados con *A. marginale*.

Las tablas 4, 5 y 6, presentan los datos correspondientes a la temperatura, la parasitemia y el hematocrito, respectivamente, en los bovinos en el día del tratamiento con el compuesto (Oxitetraciclina + Isometamidium) y en los días PT.

**Tabla 4.** Seguimiento de la temperatura (°C) en bovinos infectados con *Anaplasma marginale*, y tratados con la asociación Oxitetraciclina - Isometamidium en los días siguientes al tratamiento (PT).

Bovino número	Días postratamiento (PT)																			
	0*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	18	19	20
413 A	40,2	38,6	39,4	38,6	38,5	38,6	38,5	38,0	38,2	-	38,0	38,1	--	38,5	38,5	38,2	39,4	38,5	39,5	38,0
413 B	38,4	39,1	38,6	38,2	38,0	38,6	38,4	-	-	38,9	-	-	-	38,6	-	-	-	-	-	-
414	40,5	41,0	40,2	-	-	-	39,1	38,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
416 A	40,1	39,0	39,5	39,3	38,0	38,7	39,2	38,8	-	38,0	38,2	38,6	40,5	-	-	-	-	-	-	-
416 B	40,5	40,9	40,5	-	-	-	39,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9712 A	40,4	38,2	38,9	37,7	-	-	-	-	38,6	-	38,6	38,9	38,6	-	-	-	-	-	-	-
9712 B	38,6	38,8	39,1	38,9	38,9	-	-	38,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9714 A	40,3	38,2	38,8	38,7	-	-	-	-	38,1	-	38,4	-	-	-	38,4	-	38,7	40,1	-	-
9714 B	40,1	38,0	38,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*Día del tratamiento; A = Primer tratamiento; B= Segundo tratamiento

**Tabla 5.** Seguimiento de la parasitemia (%) en bovinos infectados con *Anaplasma marginale* y tratados con la asociación Oxitetraciclina - Isometamidium, en los días siguientes al tratamiento (PT).

Bovino número	Días postratamiento (PT)																			
	0*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	15	18	20	22	23	27
413 A	3,5	1	0,7	0,3	-	-	0,05	-	-	-	-	0	-	-	-	0,27	0,63	0,7	0,9	2,27
413 B	2,27	-	0,2	-	-	-	0,08	-	-	0,07	-	-	-	0,021	-	-	-	-	-	-
414	1,5	1,8	0,7	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
416 A	2,9	-	2,6	0,76	-	0,23	-	0,17	-	-	-	-	0,15	-	-	-	-	-	-	-
416 B	0,15	0,07	0	-	-	-	0,27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9712 A	13,0	2,8	-	0,41	-	-	-	-	0,4	-	1,3	-	2,4	-	-	-	-	-	-	-
9712 B	2,4	2,3	1,3	2,0	0,44	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9714 A	2,08	0,65	-	0,68	-	-	-	-	0,2	-	0,14	-	-	-	0,24	2,3	4,1	-	-	-
9714 B	4,1	-	0,61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*Día del tratamiento; A= Primer tratamiento; B= Segundo tratamiento.

**Tabla 6.** Seguimiento al hematocrito (%) en bovinos infectados con *Anaplasma marginale* y tratados con la asociación Oxitetraciclina - Isometamidium, en los días siguientes al tratamiento (PT).

Bovino número	Días postratamiento (PT)																			
	0*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	19	11	12	13	14	17	18	20	22	23
413 A	18	15	16	15	-	-	18	-	-	-	-	25	-	-	-	-	28	28	25	24
413 B	20	-	23	-	-	-	27	-	-	32	-	-	-	28	-	-	-	-	-	-
- 414	28	28	26	-	-	-	32	36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
416 A	24	-	20	23	-	28	-	30	-	-	-	-	31	-	-	-	-	-	-	-
416 B	31	28	27	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9712 A	25	25	-	25	-	-	-	-	30	-	30	-	23	-	-	-	-	-	-	-
9712 B	23	23	25	23	25	-	33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9714 A	23	28	-	31	-	-	-	-	35	-	32	-	-	-	30	26	24	-	-	-
9714 B	24	-	-	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*Día del tratamiento; A= Primer tratamiento

En el día del primer tratamiento, todos los bovinos presentaban temperaturas superiores a 40 °C y fueron disminuyendo gradualmente desde el día 2 PT, para incrementarse de nuevo en los días 10 a 27 en cuatro de las terneras debido a una nueva elevación de la parasitemia. El día del tratamiento, los bovinos presentaban parasitemias variables con *A. marginale* desde 1.5 hasta 13,0%. Desde el día 1 PT los niveles de parasitemia entraron en franco descenso y, entre los días 4 y 9 PT, mostraron cifras variables entre 0,05 y 0,4%, pero entre los días 10 y 27 PT, varios de los bovinos presentaron parasitemias superiores al 1%. El día del tratamiento, las terneras experimentales, con excepción de la No. 414, presentaban hematocritos inferiores a 25%, como resultado de la parasitemia presente en ese día. Este parámetro empezó a normalizarse ( $\geq 28\%$ ) entre los días 5 y 10 PT. De ahí en adelante y hasta el día 23 PT el parámetro tiende a descender en algunos animales en concordancia posiblemente con el nuevo incremento de la parasitemia. La eficacia calculada promedio fue de 75,59%, fluctuando entre 58,67 y 90,77%. En todos los animales, la parasitemia en el día del tratamiento, fue significativamente ( $p < 0,05$ ) mayor que la registrada en los diferentes días PT. La tabla 7 presenta los niveles de parasitemia en el día del tratamiento y en cada uno de los 8 días PT al igual que el promedio del parámetro para esos 8 días y el valor de la eficacia obtenida en cada animal.

**Tabla 7.** Parasitemia con *Anaplasma marginale* en el día del tratamiento, en los ocho días siguientes al mismo y porcentaje de eficacia.

Bovino número	Parasitemia (%) en el día del tratamiento (DT) y siguientes									Promedio	Eficacia (%)
	DT	1	22	3	4	5	6	7	8		
413	3,5	1	0,7	0,3	-	-	0,05	-	-	0,51	85,43
414	1,5	1,8	0,7	-	-	-	0	0	-	0,62	58,67
416	2,9	-	2,6	0,76	-	0,23	-	0,17	-	0,94	67,59
9712	13,0	2,8	-	0,41	-	-	-	-	0,4	1,20	90,77
9714	2,0	0,65	-	0,68	-	-	-	-	0,2	0,51	75,49

***Trypanosoma vivax***

En el período posinoculación (PI), las variables temperatura rectal, parasitemia y hematocrito fueron registradas desde el día 7 hasta el día 11 PI. Las tablas 8 a 10 presentan la información correspondiente. Desde el día 7 PI, tres de las seis terneras evidenciaban fiebre y, entre los días 8 y 9 PI, lo hicieron las otras tres. *T. vivax* fue observado, tanto en tubo microcapilar<sup>28</sup> como en extendidos sanguíneos coloreados, entre los días 7 y 9 PI, situándose el período prepatente en esos días. El hematocrito presentó, en el día 7 PI valores  $\geq 27\%$  y continuó así, aumentando notoriamente en el día 9 PI. La Figura 2, muestra una alta parasitemia con *T. vivax* en uno de los bovinos experimentales.

**Tabla 8.** Seguimiento de la temperatura (°C), en bovinos inoculados con *Trypanosoma vivax* en los días siguientes a la inoculación (PI).

Bovino número	Días posinoculación (PI)				
	7	8	9	10	11
330	-	-	40,0	39,5	39,7
53-3	41,0	41,0	-	38,2	-
19-8	40,7	40,7	-	38,1	-
05-5	39,5	39,5	38,7	38,5	-
329	38,9	38,9	39,8	38,2	-
SN	38,4	39,9	-	38,5	-

**Tabla 9.** Seguimiento de la parasitemia (Tripanosomas/campo), en bovinos inoculados con *Trypanosoma vivax*, en los días siguientes a la inoculación (PI).

Bovino número	Días posinoculación (PI)				
	7	8	9	10	11
330	0	0	+	0,16	3
53-3	15	11	0	0	-
19-8	20	8	0	0	-
05-5	0	0	0,1	1,8	-
329	0	0	3	0	-
SN	0	2	0	0	-

\*Woo.

**Tabla 10.** Seguimiento del hematocrito (%) en bovinos inoculados con *Trypanosoma vivax*, en los días siguientes a la inoculación (PI).

Bovino número	Días posinoculación (PI)				
	7	8	9	10	11
330	-	-	35	40	40
53-3	28	28	27	30	-
19-8	27	27	35	33	-
05-5	38	38	40	40	-
329	30	30	35	25	-
SN	28	28	38	25	-



**Figura 2.** *Trypanosoma vivax* en frotis sanguíneo coloreado con Giemsa de un animal experimental.

En la fase postratamiento (PT), los datos de temperatura, parasitemia y hematocrito se presentan en las tablas 11, 12 y 13, respectivamente. El día del tratamiento con el compuesto Oxitetraciclina – Isometamidium, cinco de los seis bovinos tratados presentaban fiebre, pero la temperatura rectal empezó a normalizarse desde el día 1 PT y continuó normal hasta el final del estudio (día 21 PT), con excepción de uno de los bovinos que mostró reacción febril nuevamente en los días 7 y 8 PT, previo a una nueva observación del parásito en la sangre en el día 10 PT. En el día del tratamiento, los bovinos presentaron parasitemias con *T. vivax* entre 1,8 y 11 flagelados por campo microscópico (100X). De ahí en adelante y hasta el día 21 PT, no se observaron tripanosomas en los bovinos, con excepción de uno de ellos que evidenció una parasitemia baja (0,06 tripanosomas/campo) en el día 10 PT. El hematocrito en el día del tratamiento presentó niveles  $\geq 27\%$ . De ahí en adelante los valores de esta variable fueron normales y nunca estuvieron por debajo de 25%.

La ausencia de tripanosomas en los bovinos desde el día 1 PT, hizo innecesario el cálculo de eficacia, la cual, para los 8 días PT, fue de 100%. De todas maneras, el cálculo de eficacia para el bovino que presentó nuevamente parasitemia en el día 10 PT, fue de 98%. Por la misma razón anterior, la estadística no solo no se consideró necesario, dado lo obvio de los resultados, sino que su cálculo envolvía dificultad, considerando que casi todos los datos de parasitemia PT, eran 0 (Cero).

**Tabla 11.** Seguimiento de la temperatura (°C) en bovinos infectados con *Trypanosoma vivax* y tratados con la asociación Oxitetraciclina - Isometamidium en los días siguientes al tratamiento (PT).

Bovino número	Días postratamiento (PT)												
	DT*	1	2	3	5	6	7	8	10	15	16	17	21
330	39,7	-	-	38,6	-	-	40,3	40,3	38,0	38,0	-	-	38,6
53-3	41,0	-	38,2	38,0	-	-	38,2	-	-	-	-	38,5	-
19-8	40,7	-	38,1	38,2	-	-	39,2	-	-	-	-	38,8	-
05-5	38,5	-	37,9	-	38,3	-	-	-	-	38,5	-	-	-
329	39,8	38,3	-	38,5	-	38,1	-	-	-	-	38,3	-	-
SN	39,9	-	38,5	38,3	-	-	38,5	-	-	-	-	38,2	-

\*Día del tratamiento.

**Tabla 12.** Seguimiento de la parasitemia (Tripanosomas/campo) en bovinos infectados con *Trypanosoma vivax* y tratados con la asociación Oxitetraciclina - Isometamidium, en los días siguientes al tratamiento (PT).

Bovino número	Días postratamiento (PT)													
	DT*	1	2	3	5	6	7	8	10	12	15	16	17	21
330	3	-	-	0	-	-	0	0	0,06	0	0	-	-	0
53-3	11	-	0	0	-	-	0	-	-	-	-	-	0	-
19-8	8	-	0	0	-	-	0	-	-	-	-	-	0	-
05-5	1.8	-	0	-	0	-	-	-	-	-	0	-	-	-
329	3	0	-	0	-	0	-	-	-	-	-	0	-	-
SN	2	-	0	0	-	-	0	-	-	-	-	-	0	-

\*Día del tratamiento. 0= no se observaron tripanosomas.

**Tabla 13.** Seguimiento del hematocrito (%) en bovinos infectados con *Trypanosoma vivax* y tratados con la asociación Oxitetraciclina - Isometamidium, en los días siguientes al tratamiento (PT).

Bovino número	Días postratamiento (PT)													
	DT*	1	2	3	5	6	7	8	10	12	15	16	17	21
330	40	-	-	35	-	-	28	28	28	28	30	-	-	31
53-3	28	-	30	38	-	-	35	-	-	-	-	-	31	-
19-8	27	-	33	34	-	-	30	-	-	-	-	-	26	-
05-5	40	-	29	-	34	-	-	-	-	-	35	-	-	-
329	30	25	-	25	-	28	-	-	-	-	-	29	-	-
SN	28	-	25	32	-	-	26	-	-	-	-	-	28	-

\*DT Día del tratamiento

## Discusión

### *Anaplasma marginale*

El período prepatente para esta rickettsiosis, observado en el presente trabajo, (17 a 22 días) está dentro del amplio rango reportado en diferentes documentos, el cual es de 15 a 90 días<sup>23</sup>; 7 a 60 días<sup>21</sup>; 18 a 34 días<sup>4</sup>. Cabe anotar que la amplitud del rango del mencionado período, depende de factores diversos como: la concentración del inóculo, la vía de administración, la cepa de *Anaplasma*, el estatus inmunológico del animal, entre otros. Así mismo, el comportamiento de las variables clínicas, parasitológicas y hematológicas observadas en los bovinos del presente estudio, son las que corresponden a casos clínicos de anaplasmosis, tanto en infecciones naturales como en condiciones experimentales<sup>4, 22, 25</sup>. En la presente prueba, cuatro de los cinco bovinos tratados con el compuesto Oxitetraciclina-Isometamidium, presentaron nuevamente parasitemia con *A. marginale*, entre los días 10 y 27 PT.

Este hecho es de normal ocurrencia con este parásito, el cual se caracteriza por la persistencia en los animales recuperados de un episodio clínico, tratado con las dosis recomendadas de Oxitetraciclina (10 mg/kg diario por tres días consecutivos). Kocan<sup>20,22</sup> citan cómo varios trabajos realizados con Oxitetraciclina a dosis más altas por varios días consecutivos, no pudieron “limpiar” de *A. marginale* a los bovinos en los cuales se pretendía eliminar su condición de portador. Resultados similares fueron reportados por otros autores<sup>9</sup>.

De otro lado, es conocido que los bovinos que sobreviven a la infección y episodio clínico de anaplasmosis, continúan siendo portadores del parásito por el resto de sus vidas<sup>21</sup> Estos estados, denominados por algunos investigadores “simbiosis tolerante”, permiten al *Anaplasma* persistir y transmitirse y, al hospedador, desarrollar protección contra organismos homólogos. En este contexto, no parece recomendable “implementar tratamientos que eliminen completamente el parásito en zonas enzoóticas”<sup>23</sup> Al respecto, Benavides *et al.*,<sup>4</sup> manifiestan: “Un compuesto eficaz para el control de los cuadros clínicos relacionados con hemoparasitismos, debe controlar las principales manifestaciones clínicas que pueden poner en peligro la vida del animal, al tiempo que facilite el establecimiento de inmunidad protectora y retornar a un estado de equilibrio que permita que el animal pueda continuar llevando una vida productiva en ecosistemas endémicos”.

### ***Trypanosoma vivax***

En el presente trabajo, el período prepatente observado fue de 7 a 9 días, siendo cercano al de 9 a 14 días reportado en otras investigaciones<sup>17,24</sup>. En otros estudios, el período prepatente inició más temprano, siendo de 2 a 10 días<sup>15</sup> y de 4 a 8 días<sup>3</sup>. Al igual que con otros hemoparásitos, el período prepatente puede variar con la cantidad de inóculo, la vía de inoculación, el estado inmunológico y sanitario del animal y otros.

La infección provocada por el inóculo de *T. vivax* usado en la presente investigación, fue de tipo agudo y presentó las manifestaciones clásicas de fiebre, descenso del hematocrito y aumento de la parasitemia descritas para el parásito<sup>3,11,10</sup>.

El compuesto Oxitetraciclina-Isometamidium ejerció un excelente control del episodio agudo de tripanosomosis bovina causado por *T. vivax* y, salvo una parasitemia muy baja (0.06 tripanosomas/campo) observada en uno de los animales en el día 10 PT, el flagelado no pudo ser evidenciado en los extendidos sanguíneos de los bovinos restantes, examinados hasta la terminación del estudio (día 21 PT). La ausencia del parásito en estos bovinos es explicable, dado que el Isometamidium, suministrado a la dosis de 0,5 a 1 mg en una sola aplicación, provee protección contra el parásito por 3 a 6 meses<sup>19,2</sup>. En Colombia, no se han documentado reportes de resistencia al isometamidium por parte de *T. vivax*, aunque si ha sido documentado en el caso del otro compuesto (diaceturato de diazoamino benzamidina) empleado en el control del flagelado<sup>6,12</sup>.

## **Conclusiones**

En los bovinos experimentales inoculados con la cepa de campo de *A. marginale*, el período prepatente varió entre 17 y 22 días PI.

Los resultados muestran que la asociación Oxitetraciclina-Isometamidium (Isopan®) administrada a la dosis recomendada por el productor, permite en los bovinos, superar un episodio clínico de anaplasmosis, como lo indica la normalización de los parámetros clínicos, parasitológicos y hematológicos en los días siguientes a la administración del compuesto.

En cuatro de los cinco bovinos tratados con el compuesto Oxitetraciclina-Isometamidium, se presentó recurrencia de la anaplasmosis clínica entre los días 10 y 27 PT. Este hecho puede obedecer a la conocida persistencia natural del parásito que no permite su esterilización en el organismo animal con una dosis única y puede reactivarse posteriormente.

En los bovinos inoculados con la cepa de campo de *Trypanosoma vivax*, el período prepatente varió entre 7 y 9 días PI.

El compuesto Isopan® fue eficaz en el control de la infección con *Trypanosoma vivax*, desde el día siguiente a su aplicación y conservó su eficacia durante todo el período de observación postratamiento (21 días).

En ningún momento durante el curso de la Prueba de Eficacia, se observó reacción desfavorable local o sistémica alguna asociada con la aplicación del compuesto.

### Agradecimientos

Se resalta la excelente colaboración y dedicación del grupo directivo y personal de apoyo del Politécnico en su granja de Marinilla, en la realización del proyecto y el soporte financiero de Laboratorios Reveex de Venezuela.

### Referencias

1. Acock AC. A gentle introduction to Stata. 4th Ed. College Station, Tx. Stat Press 2014; 162-173.
2. Azeredo – Bastos TS, Marques - Faria A, De Assis-Cavalcante AS, De Carvalho-Madrid AS, Beltrán – Zapa DM, Niccaretta JE, Cruvinel LB and others. Comparison of therapeutic efficacy of different drugs against *Trypanosoma vivax* on experimentally infected cattle. *Prev Vet Med.* 2020, 30:181.
3. Anosa VO. Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. *Zbl Vet Med B* 1983; 30: 717-141.
4. Benavides OE, Vizcaíno GO, Polanco PN, Mestra PA, Betancur HOJ. Efecto terapéutico de un fármaco frente a los hemoparásitos del bovino *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*. *Rev CES Med Vet Zootec* 2012; 7(1): 33-48.
5. Benítez RG. Anaplasmosis y piroplasmosis. [Internet] [Consultado: junio 2020]. Disponible en: <https://www.ganaderia.com/destacado/Anaplasmosis-y-Piroplasmosis>
6. Betancourt JA. Studies on the epidemiology and economic importance of *Trypanosoma vivax* Ziemann 1905 in Colombia. Ph D Thesis, College of Veterinary Medicine, Texas A&M University. College Station Texas, 1978. 186 p.
7. Betancur HOJ, Giraldo RC, Betancourt EJA. Tripanosomosis bovina *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. *Rev Acovez* 2018; 47(3) Ed 131: 21-26.
8. Cano GN. Baytril en el tratamiento de la anaplasmosis bovina. Trabajo presentado en: XXIV Congreso Mundial de Veterinaria. Rio de Janeiro, Brasil, 1992.
9. Coetzee JF, Apley MD, Kocan KM, Rurangirwa FR, Van Donkersgoed J. Comparison of three oxytetracycline regimes for the treatment of persistent *Anaplasma marginale* infections in beef cattle. *Vet Parasitol*, 2005,127: 61-73.
10. Dagnachew S and Bezie M. Review on *Trypanosoma vivax*. *Afric J Basic Appl Sci* 2015; 7(1): 41- 64.

11. Daley CA. A sequential study of disease caused by *Trypanosoma vivax* in experimentally infected calves, utilizing clinical, pathological, histopathological and immunofluorescent techniques. MSc Thesis, College of Veterinary Medicine, Texas A&M University, College Station, Texas, 1971, 91 p.
12. Desquesnes M, De la Rocque S and Peregrine AS. French Guyana stock of *Trypanosoma vivax* resistant to diminazini aceturate but sensitive to isometamidium chloride. *Acta Trop* 1995; 60: 133-136.
13. FAO. The state of food insecurity in the world (SOFI). Food and Agricultural Organization of the United Nations. Via delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy 2004.
14. Fedegan. Situación en Colombia de enfermedades bovinas no sujetas al control oficial. Sanmartín Obregon & Cia. 2011.
15. Gonzatti MI, Gonzalez-Baradat B, Aso PMB and Reyna-Bello A. *Trypanosoma (Duttonella) vivax* and tripanosomosis in Latin América: Secadera/Huequera/Cacho Hueco. In: Magez S and Randwaska M (Eds). *Trypanosomes and tripanosomiasis*. Springer-Verlag Wien, 2014: 261-285.
16. Herrera M, Soto A, Urrego V, Rivera G, Zapata M, Rios L. Frecuencia de hemoparásitos en bovinos del Bajo Cauca y Alto San Jorge, 2000-2005. *Rev MVZ, Córdoba* 2008; 13(3): 1486-1494.
17. Hoare C. The trypanosomes of mammals, a zoological monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, 1972.
18. ICA – GTZ. Proyecto Colombo – Aleman Intensificación del control de enfermedades animales. PARTE II. Resultados de una encuesta realizada sobre producción y salud animal en Córdoba, Montería, Colombia 1982/1983/1984.
19. ILRAD. Improved tripanosomiasis control: Studies on drug treatment. *Ilrad Reports*, January, 1987,5(1): 1-8.
20. Kocan KM, Blouin EF, Barbet AF. Anaplasmosis control. *Ann NY Acad Sci* 2000; 916: 501-509.
21. Kocan KM, De la Fuente J, Guglielmone AA and Melendez R. Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clin. Microbiol Rev* 2003; 16(4): 698-712.
22. Kocan KM, De la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF and Ewing SA. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasit* 2010; 167: 95-107.
23. Pfizer. Anaplasmosis. Pfizer Salud Animal Departamento Técnico, Bogotá, Colombia. 1993.
24. Stephen LE. Tripanosomiasis, a veterinary perspective. Pergamon Press, Oxford, UK 1986.
25. Taylor MA, Coop RL and Wall RL. *Veterinary Parasitology*, Third Ed. Blackwell Publishing Ltd 9600 Garsington Road, Oxford, UK, 2007.

26. Vargas-Cuy D.; Torres – Caycedo M & Pulido – Medellín M. Anaplasmosis y babesiosis: estudio actual. *Pensamiento y Acción* 2019, 26: 45-60
27. Wells, E.A.; Betancourt, A.; Ramirez, L.E.M. *Trypanosoma vivax* in Colombia: Epidemiology and economic impact. *FAO-World Animal* 1982; 43: 17-23.
28. Woo PTK. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomosis. *Acta Trop* 1970; 27: 384-386.
29. Zapata R.S.; Cardona, E.A.; Reyes, V.J.; Triana, C.O.; Peña G.V.H.; Rios O.L.A. *et al.* Tripanosomiasis bovina en ganadería lechera de trópico alto: Primer informe de *Haematobia irritans* como principal vector de *T. vivax* y *T. evansi* en Colombia. *Rev Med Vet Bogotá*. 2017; 33: 21-34.