

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
"GABRIEL RENE MORENO"
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia



**"ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE LA TRIPANOSOMIASIS BOVINA EN
EL MUNICIPIO DE ASCENSIÓN DE GUARAYOS"
(PROVINCIA GUARAYOS, DPTO. SANTA CRUZ)**

Resumen de Tesis de Grado presentada para

Obtener el Título de

Medico Veterinario Zootecnista

Por

Sonia Rodriguez Suarez

Asesores:

Dr. Jose Luis Gonzales L.

Dr. Hugo Ribera C.

Santa Cruz de La Sierra – Bolivia

2003

ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE LA TRYPANOSOMIASIS BOVINA EN EL MUNICIPIO DE ASCENCION DE GUARAYOS. (Provincia Guarayos del Departamento de Santa Cruz)¹

Rodríguez S. S² ., Gonzales J. L³ ., Ribera H. C⁴ .

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U. A. G. R. M.

I. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio seroepidemiológico de la Tripanosomiasis Bovina, mediante métodos de diagnósticos parasitológicos y serológicos, en el Municipio de Ascención de Guarayos.

Se tomaron 251 muestras al azar, las cuales fueron procesadas en el LIDIVET, mediante los métodos parasitológicos de Frotis sanguíneo y el método de Centrifugación de Microhematocrito, y métodos serológicos de Elisa (indirecta) y CATT/ *T. evansi*. Los resultados obtenidos en estas pruebas fueron; mediante las observaciones de frotis sanguíneos se identificaron 12 positivos a *T. vivax*, con una prevalencia de 4,78 % mientras que no se identificó ningún parásito como *T. evansi*; en el método de centrifugación de microhematocrito se observa 9 positivos (3,6%) con una prevalencia de 3,59%; mediante la técnica de CATT/*T.evansi* se obtuvo 154 serorreacciones positivas con una prevalencia de 61,35% y mediante la técnica de Elisa *T.vivax* se obtuvo 131 serorreacciones positivas, de un total de 171 muestras, con una prevalencia de 76,61%. De acuerdo a los resultados estadísticos, los métodos parasitológicos empleados, son los únicos que muestran una concordancia significativa entre sí común valor kappa (0,311). También se pudo observar que de acuerdo al sexo no existe diferencia significativa ($P>0,05$), y por el contrario si se observó que existe diferencia significativa ($P<0,05$) en los animales mayores de 73 meses con los animales menores de 48 meses, de acuerdo a la raza se observaron diferencias significativas ($P<0,05$) entre los animales de raza Mestiza con Nelore y Mestiza con otros, pero solamente mediante la prueba de Elisa.

¹ Tesis de Grado presentada por Rodríguez S. Sonia, para obtener el Título de Médico Veterinario y Zootecnista.

² Calle Nazareth n° 3452 Santa Cruz – Bolivia

³ Médico Veterinario, Titular del Laboratorio de Investigación Veterinaria y Diagnóstico LIDIVET, Santa Cruz – Bolivia.

⁴ Médico Veterinario, Titular del Laboratorio de Investigación Veterinaria y Diagnóstico LIDIVET, Santa Cruz – Bolivia.

II.-INTRODUCCIÓN

En el mundo existen varios factores que son limitantes para la producción animal y se considera que las enfermedades parasitarias hemáticas, representan uno de los principales problemas para el decremento de la producción pecuaria, de este modo, para optimizar esta actividad, es de vital importancia mantener los hatos ganaderos en un perfecto estado sanitario, ya que la producción de proteína animal en el mundo es de mucha importancia, por que con el transcurrir del tiempo su demanda va incrementándose, pero esta producción en el presente siglo se encuentra seriamente comprometida por varios factores, siendo la Tripanosomiasis Bovina uno de ellos.

Esta enfermedad es producida por un protozoo miembro del género *Trypanosoma*, siendo las especies patógenas para Sud América y Bolivia *T. vivax* y *T. evansi*, las cuales fueron diagnosticadas por primera vez en las Americas en 1919 en la Guayana Francesa en bovinos procedentes de África (Leger y Vienne, 1919), extendiéndose posteriormente a países de América central y del Sur.

En Bolivia los primeros brotes de la enfermedad fueron en el Departamento de Santa Cruz. Los primeros casos fueron detectados por LIDIVET entre Enero y Marzo de 1996 en la Laguna Concepción (Provincia Chiquitos) en animales procedentes del norte del Pantanal Brasileño. Otros brotes de esta enfermedad aparecieron posteriormente en las provincias de Ñuflo de Chávez y Guarayos. Tanto *T. vivax* como *T. evansi* fueron identificados durante estos brotes, con casos clínicos severos en las granjas afectadas (Aguilar Machado y Rivera Dávila, 1997). Posteriormente brotes de tripanosomiasis fueron reportados y confirmados por diagnóstico parasitológico en regiones cercanas a Santa Cruz de la Sierra e incluso en el Departamento del Beni (Cuéllar y Carrique, 1998), pero estos métodos tienen una baja sensibilidad, de modo que no detectan animales infectados con niveles bajos de parasitemia (Desquesnes, 1997).

Otros métodos de diagnósticos de la enfermedad son las pruebas serológicas, como la prueba de Elisa, que en comparación con la prueba parasitológica tiene una sensibilidad más elevada (Masake y col., 2002).

T. vivax es una especie patógena y produce una tasa considerable de mortalidad. El ganado bovino que sobrevive, desarrolla un estado crónico de la enfermedad presentándose como portadores permitiendo la difusión de nuevos casos, por la abundante existencia de los insectos transmisores (tábanos y otras moscas picadoras) (Hall y Col. 1993 y 2001) que están presentes en el medio.

Debido a que la presencia de los mismos es de mucha importancia, los resultados obtenidos mediante las pruebas serológicas y parasitológicas servirán como base para el desarrollo de estrategias y control eficaz contra estos parásitos. Los objetivos del presente trabajo son: a) Estudiar la situación epidemiológica de la tripanosomiasis bovina mediante métodos de diagnóstico parasitológicos y serológicos en el Municipio de Ascensión de Guarayos, Departamento de Santa Cruz. b) Identificar mediante métodos parasitológicos la presencia de *Trypanosomas* en sangre de bovinos. c) Determinar la presencia de Anticuerpos contra *Trypanosoma Vivax y/o T.evansi*, mediante Elisa indirecta y Test de Aglutinación en Placa para Tripanosomiasis (CATT) para *T.evansi*. d) Aportar datos epidemiológicos e información detallada a los organismos correspondientes para su seguimiento y desarrollo de programas de control y erradicación.

IV.-MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.- MATERIAL

4.1.1. Localización del área de trabajo.

Este trabajo de investigación se realizó en el Municipio de Ascensión de Guarayos, perteneciente a la Provincia Guarayos del Departamento de Santa Cruz de la Sierra.

Se encuentra ubicado a 15° y 42' de latitud Sur y 63° y 06' latitud Oeste. Presenta una altitud de 245 m.s.n.m. con una precipitación pluvial de 1.205 mm y una temperatura media anual de 24 a 25 grados centígrados, con una temperatura máxima de 30 grados centígrados y una mínima de 16.4 grado centígrados, una humedad relativa de 81 %. En la variación de la temperatura se distinguen también dos épocas, el verano con temperaturas más elevadas en los meses de octubre a abril y el invierno de abril a septiembre caracterizado por la presencia de días con vientos fríos provenientes del sur, combinados con una alta humedad ambiental, las temperaturas mínimas registradas no sobrepasan los 15 grados centígrados. Los vientos vienen del norte y sur, predominando los vientos del noreste en la época de verano y en el invierno los vientos del sur. El promedio de velocidad de los vientos es de 15 a 20 Km/h, con máximas extremas de hasta 70 Km/h.

4.1.2. Material del Muestreo

- Tubos vacutainer
- Aguja vacutainer
- Porta objetos
- Papel filtro
- Microcentrífuga
- Tubos capilares
- Microscopio
- Adaptador
- Plastilina

4.1.3 Material para Elisa

Se aplicó el Kit de Elisa Indirecta para la Detección de Anticuerpos contra *T. vivax* en Suero de Bovino (I-Tab Elisa – TvAgd), distribuido por la Agencia Internacional de Energía Atómica (AIEA), programa conjunto de Producción y Salud Animal FAO/AIEA.

- Fotómetro conectado a una computadora para hacer la lectura.
- Incubadora con un agitador magnético.
- Pipetas
- Sistema de Purificación de Agua
- Refrigerador
- Freezer
- Medidor de Ph
- Crioprecipitador
- Placas de Polystyrene con el antígeno tapizado.
- Microplacas
- Antígeno empleado de *T.vivax* desnaturalizado
- Suero Control
- Conjugado de Anti – especie, antibovino.
- Agua y diluyente de solución bufferada
- Detergente bloqueador (Tween 20)
- Solución sustrato (peróxido de hidrógeno)
- Cromógeno (ABTS)
- Solución de stop (Acido Ortofosfórico)

4.1.4 Material para CATT/T.evansi

Se utilizó el Kit distribuido por el Centro de Medicina Tropical ANTWERP, Bélgica.

- Antígeno

- Solución bufferada
- Control positivo
- Rotator
- Control negativo
- Jeringas
- Pipetas
- Placa de plástico con 10 círculos
- Espátulas plásticas para mezclar los sueros

4.1.4. Toma de Muestras

Se tomaron 251 muestras de bovinos al azar del Municipio de Ascención de Guarayos, la cual fue dividida en 4 estratos geográficos, para de este modo cubrir completamente el área de estudio, en base a los datos proporcionados por la asociación de ganaderos del lugar.

Los tipos de muestras tomadas fueron: sangre completa, tomada directamente de la oreja para la preparación del frotis y para los tubos capilares para llevar a cabo la prueba de centrifugación de microhematocrito para el diagnóstico de la tripanosomiasis en el campo, y sangre completa sin anticoagulante de la vena coccigea en tubos vacutainer para la obtención del suero sanguíneo para realizar las pruebas serológicas en el laboratorio.

El tamaño de muestra fue tomado por conveniencia basada en la disponibilidad económica y de reactivos para realizar las pruebas de laboratorio.

4.2. METODOS

4.2.1. Métodos de Laboratorio

4.2.1.1. Métodos de Diagnóstico Parasitológicos

Los Métodos empleados fueron: Método de Centrifugación de Microhematocrito en el campo, para la observación de movimiento de los tripanosomas a nivel de costra flogística y observación del parásito por medio de frotis sanguíneo teñidos con coloración de Giemsa en el laboratorio, con este último método se tuvo el cuidado de tomar en cuenta las diferencias morfológicas para cada tripanosoma y hacer su respectiva clasificación.

4.2.1.2. Métodos de Diagnóstico Serológicos

Los métodos de diagnóstico serológicos empleados son Elisa (indirecta) con antígeno de *Tripanosoma vivax* desnaturalizado aplicando un punto de corte de 30 % (Jones y col., 2000) y CATT/*T. evansi*.

Para la realización de estas pruebas se siguieron las recomendaciones y protocolo de: la OIEA Agencia Internacional de Energía Atómica para Elisa y Instituto Tropical de Antwerp para CATT/*T. evansi*.

4.2.2. Método Estadístico

Los análisis de datos se realizaron basados en los resultados obtenidos mediante los métodos parasitológicos y serológicos. La evaluación de concordancia mediante los métodos de diagnóstico aplicados se realizaron con el análisis estadístico de kappa usando el programa de computación Win Episcopo 2.0. El cálculo de prevalencias y la comparación de proporciones se llevó a cabo mediante Chi cuadrado y Prueba exacta de Fisher, utilizando el programa de Epi Info 6.

V.- RESULTADOS

5.1 Diagnóstico de la Tripanosomiasis Bovina

En el presente trabajo de investigación se obtuvieron resultados positivos a la tripanosomiasis, mediante la utilización de métodos de diagnósticos: Parasitológicos y Serológicos.

5.1.1 Metodos Parasitológicos.

Enpleando la técnica de Frotis sanguíneos se obtuvieron 12 casos positivos (4.8 %) a *T. vivax* (*Tv*) y con la técnica de centrifugación de microhematocrito (CMHT) se obtuvieron 9 casos positivos (3.6%), (Cuadro N°1, Gráfico N°1).

5.1.2 Métodos Serológicos.

Tanto en el Método de Elisa como en el CATT/*T.evansi* se pudieron observar serorreacciones positivas. Mediante el método de Elisa se analizaron el total de muestras tomadas (251) pero solo los resultados de 171 muestras fueron tomadas como válidas, después de las evaluaciones de calidad interna aplicadas a las placas y sus respectivos controles: De las 171 muestras válidas 131 (76,6%) muestras fueron positivas. De las 251 muestras mediante el método de CATT/*T.evansi*, 154 (61,4%) fueron positivas (Cuadro N°1 y gráfico N°1)

CUADRO N° 1 POSITIVOS Y NEGATIVOS A TRIPOSONOMIASIS BOVINA EN LAS DIFERENTES PRUEBAS

PRUEBAS	POSITIVOS	PORCENTAJES	NEGATIVOS	PORCENTAJES	TOTAL
Frotis Tv (1)	12	4.8 %	239	95.2 %	251
Frotis Te (2)	0	0 %	251	100 %	251
MCMH T (3)	9	3.6 %	242	96.4%	251
Elisa Tv (4)	131	76.6 %	40	23.4 %	171
CATT Te (5)	154	61.4 %	97	38.6%	251

(1) *Tripanosoma vivax*

(2) *Tripanosoma evansi*

(3) Metodo de centrifugación de Microhematocrito.

(4) Elisa *Tripanosoma vivax* es en base a 171 muestras porque se descartaron 2 placas de 40 muestras cada una porque no cumplian con los requisitos de calidad exigidos para el Kit

(5) Catt *Tripanosoma evansi*

5.2 Concordancia y no concordancia entre los métodos parasitológicos y serológicos.

Realizando la evaluación de los diferentes métodos de diagnosticos empleados se pudo observar que de todos estos, solo los métodos parasitológicos mostraron una concordancia significativa entre sí, con un valor Kappa de 0.311 (Cuadro N°2). Mientras que cuando se compararon los métodos parasitológicos con los métodos serológicos y los métodos serológicos entre sí; no se observó ninguna concordancia significativa. Los valores Kappa obtenidos fueron de - 0.051 y - 0.032 cuando se comparó el método de Elisa *Tv* con el Frotis *Tv* y el MCMHT respectivamente. Cuando estos fueron comparados con CATT/ *T evansi* se obtuvo un valor Kappa de 0.008 y 0.006 para Frotis y MCMHT respectivamente y finalmente comparando los métodos serológicos entre si, se observó un valor Kappa de - 0.039. (Cuadro N°2).

5.3 Prevalencia de la Tripanosomiasis bovina.

5.4 En el presente estudio se ha logrado determinar la presencia de la tripanosomiasis bovina en el municipio de Ascención de Guarayos, habiendose identificado *Tripanosoma vivax* por métodos parasitológicos y aparentemente tambien se observaron anticuerpos contra *Tripanosoma evansi* mediante los métodos serológicos.

De acuerdo al (Cuadro N° 3) se puede observar las siguientes prevalencias en las diferentes pruebas: FROTIS *T. vivax* se determino una prevalencia de 4.78 % (I.C. de

2,49 – 8,20) , para MCMHT una prevalencia de 3,59 % (I.C de 1,65 – 6,69) , mediante la prueba de ELISA Tv una prevalencia de 76,61 % (I.C 69,54 – 82,73) y para CATT/*T.evansi* una prevalencia de 61,35% (I. C 55.06 – 67.41).

Haciendo un análisis buscando identificar factores de riesgo para la tripanosomiasis, se analizaron los factores de raza, sexo y edad. El cuadro N°4 muestra el número de animales positivos detectados por raza, donde se observa un mayor número de positivos en los animales Mestizos, en todas las pruebas de diagnóstico aplicadas. Solo se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en los resultados obtenidos mediante el método de Elisa entre Mestizos con las otras razas muestreadas (Nelore y Otros) (Cuadro N°4 y Gráfico N° 2). En el cuadro N°5 se puede observar que de acuerdo al sexo no existe diferencia significativa ($P > 0.05$) en ninguna de las pruebas de diagnóstico aplicadas a estos animales muestreados. También se puede observar que un factor de riesgo significativo es la edad, como se lo demuestra en el Cuadro N°6 y Gráfico N°4, donde se puede observar que existe más animales positivos en los animales con mayor edad.

CUADRO N° 3 PREVALENCIAS OBTENIDAS POR PRUEBAS

PRUEBA	PREVALENCIA	I.C. (95 %)
FROTIS Tv*	4,78	2,49 - 8,20
MCMHT **	3,59	1,65 - 6,69
ELISA Tv***	76,61	69,54 – 82,73
CATT/T ev****	61,35	55,02 - 67,41

* Frotis *Tripanosoma vivax*.

** Método de Centrifugación de Microhematocrito

*** Elisa *Tripanosoma vivax* en base a 171 muestras

**** CaTT *Tripanosoma evansi*

CUADRO N° 4 NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS POR RAZA

RAZA	PRUEBAS				TOTAL DE MUESTRAS
	FROTIS Tv (2)	MCMHT (2)	ELISA Tv (3)	CATT Te (2)	
MESTIZO	12	7	63 ^a	114	177
NELORE	0	0	48 ^b	26	50
OTROS (1)	1	1	20 ^b	14	24
TOTAL	13	8	131	154	251

(1) Holandes, Limousine, Pardo.

(2) No existe diferencia significativa ($P > 0.05$)

(3) Existe diferencia significativa entre Mestizo y Nelore ; Mestizo y otros ($P < 0.05$) en base a 171 muestras.

Superíndices diferentes en cada columna difieren significativamente.

CUADRO N° 5 NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS POR SEXO

SEXO	PRUEBAS				TOTAL DE MUESTRAS
	FROTIS Tv	MCMHT	ELISA Tv *	CATT Te	
MACHO	1	0	32	26	207
HEMBRA	11	8	99	128	44
TOTAL	12	8	131	154	251

*Elisa *T.vivax* en base a 171 muestras

No existe diferencia significativa ($P > 0.05$)

CUADRO Nº 6 NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS POR EDAD

PRUEBA	MESES				TOTAL DE MUESTRAS
	0 - 24	25 - 48	49 - 72	> 73	
FROTIS Tv	1 ^a	1 ^a	2 ^{a b}	8 ^b	12
MCMHT	0 ^a	0 ^a	2 ^{a b}	6 ^b	8
ELISA Tv	38 ^a	49 ^a	38 ^a	6 ^b	131
CATT Te	29 ^a	43 ^a	31 ^{a b}	51 ^b	154
TOTAL	54	78	49	70	251

Numero de muestras en cada fila con diferente superíndice guardan una diferencia significativa (P < 0.005)

VI.-DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El control de la Trypanosomiasis depende del empleo de Técnicas de Diagnóstico eficientes que nos ayuden a determinar la presencia de la misma. En el presente estudio se introdujo la técnica de Elisa con la utilización de antígeno de *T. vivax* desnaturalizado para detectar la presencia de anticuerpos contra el parásito, empleándose un punto de corte de 30 % para la categorización de positivos y negativos de los resultados. La aplicación de esta técnica con el correspondiente punto de corte ya fue evaluado, así como también su aplicación a campo por Jones, T.W y col., concluyendo que este punto de corte es adecuado para la aplicación del método de diagnóstico en Bolivia y los antígenos desnaturalizados empleados en Elisa tienen pocos problemas de reacción cruzada, comparados con la utilización de los antígenos comunes, que también ya han sido probados en la Provincia Guarayos obteniéndose una prevalencia de 8 % con la utilización de antígeno desnaturalizado y 23 % con antígeno común (Jones, T.W y col., 2000)

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo empleando métodos parasitológicos y serológicos, se ha podido observar que los métodos serológicos poseen una mayor sensibilidad comparado con los parasitológicos, como lo reporta un estudio realizado por Masake 2002 donde demuestra una sensibilidad para Elisa de 94 % mientras que solo 63% para los métodos parasitológicos. Los métodos parasitológicos no detectan animales infectados con niveles bajos de parasitemia, por lo tanto tienen una baja sensibilidad (Desquesnes, 1997)

Los resultados obtenidos en el presente trabajo respecto a la técnica de Elisa se hicieron en base de 171 muestras debido a que fueron descartadas 80 muestras, porque las placas depuradas no cumplieran con los requisitos de calidad exigidos para el Kit utilizado y la repetición de la prueba no fue posible por problemas económicos.

El diagnóstico serológico de *T. vivax* en Sud América es complicado por la necesidad de diferenciar entre la infección con otros dos trypanosomas que afectan bovinos – *T. evansi* y *T. theileri* – los cuales tienen componentes en común y pueden dar lugar a la presencia de resultados falsos positivos (Jones y Dávila, 2001).

Este problema ha sido ya resuelto en cierto modo para *T. evansi*, mediante la introducción de una variable antigenica predominante (VAT) y común entre los stocks de *T. evansi*. Este VAT común o predominante denominado como RoTat 1.2 VAT ha sido usado para diagnóstico mediante los métodos de CATT/*T. evansi*, descrito por Bajyana y Hamers (1988), el cual ha sido utilizado en este trabajo de investigación dando como resultado serorreacciones positivas a *T. evansi*, a pesar que no se logró identificar al parasito mediante la prueba de frotis sanguíneo, debido a que los bovinos son portadores crónicos, con niveles bajos de parasitemia, no siendo posible detectarlos en el frotis sanguíneo. Similares resultados fueron reportados por Frank (1994), que indicó no haber encontrado bovinos con *T. evansi* en Brasil mediante métodos parasitológicos (Silva y col.,1998)

Por el contrario, mediante la observación de frotis sanguíneos sí se logró identificar *T. vivax* por métodos parasitológicos en el Municipio de Ascención de Guarayos, confirmando la presencia del parásito en el área. Mediante el método de Elisa se logró serorreacciones positivas a *T. vivax*, pero estos resultados no pueden ser confirmativos ya que los métodos basados en la detección de anticuerpos no son totalmente específicos y tienen problemas de reacciones cruzadas, en caso de Sudamérica, entre el *T. vivax* y *T. evansi*.

Otro problema que se presenta en los test que detectan anticuerpos es la persistencia del anticuerpo en el hospedador que puede persistir un tiempo después de que el sistema inmunológico del animal ha eliminado el parásito o después de la quimioterapia. Reporte de persistencia de anticuerpos en bovinos después de 3 meses han sido reportados por Luckins y entre 4 y 6 meses por Hopkins y col. Por lo tanto los resultados obtenidos por test serológicos que detectan anticuerpos no pueden ser indicativos de infección activa del parásito, pero son considerados como buenos indicadores de un probable nivel de infección en la ganadería del área de estudio (Luckins, 1977; Hopkins y col., 1998)

Se observó también que el sexo no tiene ningún efecto en el grado de infección de los animales, por el contrario mediante la prueba de Elisa *T. vivax* se logró observar una diferencia significativa entre los animales Mestizos con Nelore; Mestizo con otras razas (Cuadro N° 5), no así en las otras pruebas; quizás se deba a que estos animales estén comprendidos entre los de mayor edad y como se observó la edad es un factor de riesgo significativo para adquirir la enfermedad, de la misma forma se observó en un estudio realizado por Braga, (2002) esto puede ser debido a que el sistema inmunitario de los animales viejos está más debilitado, lo que posibilita una mayor difusión de la enfermedad en la corriente sanguínea o también puede ser que influya su estado pasivo de los animales de defenderse de las picaduras de los vectores, ya que estos aprovechan cuando los animales están quietos, como sucede con animales viejos, como fue también reportado por Hall y col., 2001.

Realizando el análisis del valor kappa se logró observar que existe una concordancia significativa entre los métodos parasitológicos entre sí, con un valor kappa de 0.311, mientras que los métodos serológicos entre sí no demuestran una concordancia significativa y dan como resultado un valor kappa de - 0.039, lo que no ocurrió en estudios a campo en Brasil sobre *T. evansi* donde se han usado ELISA con antígeno crudo de *T. evansi* y el CATT/*T. evansi* para la detección de anticuerpo y encontraron una concordancia significativa mediante análisis kappa entre ambos métodos de todas las especies estudiadas; caballo, perro, capibara, pero no se encontró una concordancia significativa entre el CATT y el ELISA de las muestras obtenidas de bovinos Franke y Col., con una seroprevalencia reportada por ELISA en bovinos mas grandes que la obtenida por el test CATT. Estos resultados podían haberse debido a la presencia de anticuerpos a otros tripanosomas como el *T. vivax* los cuales fueron también detectados por el ELISA (Franke y col., 1994)

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación y analizando las características de sensibilidad y especificidad de los métodos de diagnóstico utilizados, se recomienda que en los estudios epidemiológicos que ameriten la investigación de la tripanosomiasis bovina, sean utilizados ambos métodos, siendo que los dos en conjunto reúnen las condiciones deseadas para llegar al diagnóstico correcto: métodos serológicos con una alta sensibilidad y métodos parasitológicos con una alta especificidad. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran y confirman la presencia de la tripanosomiasis bovina en el Municipio de Ascención de Guarayos, donde los primeros casos fueron detectados por LIDIVET entre Enero y

Marzo de 1996 en la Laguna Concepción (Provincia Chiquitos) y que luego se fueron expandiendo hasta llegar a la Provincia Guarayos. Aguilar en 1998 reportó una prevalencia de 1.33 % en la Provincia Velasco mediante los métodos parasitológicos, mientras que en este estudio se obtuvo una prevalencia de 4.8 %, en la provincia Guarayos. Se observó una seroprevalencia elevada, de un 76,68 % empleando el método de Elisa con antígeno desnaturalizado. Esto muestra un aumento en la presencia y difusión de la trypanosomiasis en la ganadería de la zona puesto que ya en el año 2000 Jones y col., empleando el mismo método de diagnóstico obtuvieron una seroprevalencia de 50 %. Además el establecimiento de forma edémica del *T. vivax* como el *T. evansi* en la provincia, también fue confirmado aplicando otros métodos de diagnósticos como es el de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Braga, 2002) Este estudio nos confirmó la presencia de los dos tripanosomas *T. vivax* y *T. evansi* puesto que se detectó su material genético para ambos. La situación es clara y nos llama a un desafío posterior de seguir investigando más sobre esta enfermedad, ya que el vector existe y el parásito también. Creemos que con un manejo adecuado y rigiéndonos a normas internacionales de cuarentena es posible controlar mejor esta enfermedad.

VII.- BIBLIOGRAFIA

- ASOCIACION VETERINARIA BRITANICA. 1966.** Manual de Enfermedades Tropicales. Enfermedades Producidas por Protozoos. Pax. México pp.179-208.
- ATIAS, A. y NEGHEME, A. 1984.** Parasitología Clínica. III Parasitología descriptiva. Hemoparásitos. Cáp. 28. Enfermedad de Chagas. 2ed. Mediterraneo. Santiago de Chile. pp. 238-250.
- BAJYANA SONGA, E. Y HAMERS, R. (1988).** A card agglutination test (CATT) for veterinary use based on an early VAT RoTat ½ of *Trypanosoma evansi*. Annales de la Societe Belge de Medecine Tropicale. **68** (3): pp 233 –40.
- BRAGA, F. F. 2002.** Evaluación del Método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para el Diagnóstico de la Tripanosomiasis Bovina, Municipio de Ascensión de Guarayos, Provincia Guarayos. Departamento de Santa Cruz. Tesis de Grado de la U.A.G.R.M. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia pp 1 -59.
- BORCHERT, A. 1964.** Enfermedades parasitarias de los animales domésticos. 2 ed. Acibia. Traducido del alemán por Cordero, C. Zaragoza, España. pp. 17 - 593.
- CORDERO DEL CAMPILLO, M. y ROJO, V.F.A. 1999.** Parasitología Veterinaria. Mc Graw Hill Interamericana. Barcelona, España pp 302-309.
- CUELLAR, A.M. and Carrique, J.J. (1998).** Informe sobre investigación epidemiológica de trypanosomiasis en el área DE San Matías y Pantanal Boliviano (provincias Velasco y Angel Sandoval). LIDIVET. Santa Cruz, Bolivia pp 1-8.
- DESQUENSES, M. (1997b).** Evaluations of a simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosoma vivax* infection in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen – enzyme – linked immunosorbent assay. *Acta Tropica* 65: pp 139 – 148.
- DIAZ, C. y UNGRIA. 1970.** Parasitología de los Animales Domésticos en Venezuela, Universidad del Zulia, Consejo de desarrollo científico y humanístico. Maracaibo, Venezuela pp.408- 433.
- DIRIE, M.F., OTTE, M.J., THALTI, R. and GARDINER, P.R: (1993a).** Comparative studies of *trypanosoma* (*duttonella*) *vivax* isolates from Colombia. *Parasitology* **106**: pp 21 - 29

- DIRIE, M.F., MURPHY, N.B. and GARDINER, P.R.** (1993b). DNA fingerprinting of *Trypanosoma vivax* isolates rapidly identifies intraspecific relationships. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. **40** (2): pp 132 – 134.
- EISLER, M.C., LESSARD, P., MASAKE, R.A., MOLOO, S.K., PEREGRINE, A.S.** (1998). Sensitive and specificity of *trypanosoma congolense* and *trypanosoma vivax* infection in cattle. *Veterinary parasitology* **79**: pp 187 – 201.
- FRANKE, R.C., MATHIAS, G. Y DIETER, M.** (1994). Investigation on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, dogs capibaras (*Hydrochaeris hydrichaeris*) in Pantanal de Pocote (Mato Grosso, Brazil). *Acta Tropica*. **58**: pp 159 – 169.
- GARDINER, P.R.** (1989). Recent studies in the biology of *Trypanosma vivax*. *Advances in Parasitology* **28**: pp 229 – 317.
- GIBSON, W. and STEVENS, J.,** (1999). Genetic exchange in the Trypanosomatidae. *Advances in Parasitology*. **43**: pp 1 – 45.
- HALL, M., CHAINEY, J., BETELLA, P. and ARAMYO, J.L.** (1993). Tabanidae of Santa Cruz, Bolivia, and their role as pets of livestock. The Natural History Museum; UK, Final Report on ODA Animal Health Programme, Project R5407.
- HALL, M.** (2001). Incrimination of vectors of *Trypanosoma vivax* in the new outbreak zone of Santa Cruz, Bolivia. Center for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh. Project completion summary on the Animal Health Research Programme, Project R7356 pp 1 - 78
- HOARE, C.A.** (1965). Vampire bats as vectors and hosts of equine and bovine trypanosomes. *Acta Tropica*. **XXII, 3**: pp 204 – 213.
- HOARE, C.A.** (1972). *The Trypanosome of Mammals. A Zoological Monograph*. Blackwell Scientific Publication. Oxford.
- HOPKINS, J.S., HARRISON, C., NOREEN, M., LUCKINS, A.G., RAE, P.E., van den BOSSCHE, P., EISLER, MARK, P.** (1998). Adaptation and validation of antibody – ELISA using dried blood spots on filter paper for epidemiological surveys of tsetse transmitted trypanosomosis in cattle. *Preventive Veterinary Medicine* **37**: pp 91 – 99.
- HULL, R.M., SWAIN, F., McCABE, W., JONES, T.W. and CLARKSON, M.J.** (1971). Adaptation of *Trypanosoma vivax* to laboratory animals. *Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **65**: pp 14 – 15.
- HUTYRA, M. y COL.** 1973. Patología y Terapéutica Especiales de los Animales Domésticos. I Enfermedades infecciosas. 3ed. Labor. Barcelona, España Pp 361 -393.
- JONES, W.T. Y DAVILA, A. M.R.** (2001). *Trypanosoma vivax* – out of Africa. *Trends in Parasitology* **17** (2): pp 99 – 101.
- JONES, T.W., PICOZZI, K., RIBERA CUELLER, H. y CUELLER, G.A.M.** (2000) Evaluation of enzyme linked immunoabsorbent assays for the diagnosis of bovine trypanosomiasis in Bolivia. Animal Trypanosomiasis Diagnosis and Epidemiology. International Atomic Energy Agency pp. 59 – 62.
- LA PAGE, G.** 1971. Parasitología Veterinaria. V Phylum protozoo. Cap. 37. Orden Protomonadina. Familia Trypanosomatidae. Traducido de la 2 edición. Continental. México, D. F pp. 590 – 593.
- LEGER, M. VIENNE, M.** (1919). Epizootie a trypanosomes chez les bovines de la Guyane Francaise. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **12**: pp 258 – 266.

- LEVINE, N. D. 1983.** Tratado de Parasitología Veterinaria. Acribia. Zaragoza, España pp. 2 - 17.
- LUCKINS, A.G., (1977).** Detection of antibodies in Trypanosome – infected cattle by means of a microplate enzyme – linked immunosorbent assay. *Tropical animal Health and Production* **9**: pp 53 – 62.
- MACHILA, N., SINYANGWE, L., MUMBANGA, J., HOPKINS, J., ROBINSON, T. Y EISLER, M.C. (2001).** Antibody – ELISA seroprevalence bovine trypanosomiasis in the eastern Province of Zambia. *Preventive Veterinary Medicine.* **49**: pp 249 – 257.
- MANNINGER, R. y JOHANNES, M. 1973.** Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos. 2ed. Labor. Barcelona , España pp. 361 – 366
- MASAKE, R.A., MAJIWA, P.A., MOLOO, S.K., MAKAU, J. M., NJUGUMA, J.T., MAINA, M., KABATA, J., OLE – MOI JOL., NANTULYA, V. (1997).** Sensitive and specific detection of *trypanosoma vivax* using the Polymerase Chain Reaction. *Experimental Parasitology.* **85**: pp 193 – 205.
- MASAKE, R.A, NJUGUNA, J.T, BROWN,C.C and MAJIWA, P.A. (2002).** The application of PCR – ELISA to the detection of *Trypanosoma brucei* and *T. vivax* infections in livestock. *Veterinary Parasitology.* 105(3): pp 179 -89.
- MERCK y CO., 1993.** El Manual Merck de Veterinaria. Parásitos Sanguíneos y del Sistema Cardiovascular. Tripanosomiasis. 4 ed. Océano Centrum, Barcelona España pp. 79- 96 .
- MUÑOZ, K. and CHAVEZ. (2001).** *Trypanosoma evansi* isolates from capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 96 (7): pp 945 – 946.
- NANTULYA, V.M., MUSOKE, A.J., ITO, S., MINJA, S. Y SAIGAR, N. (1986).** Identification of a species – specific *Trypanosoma vivax* antigen for use diagnosis. In “*Parasitology / Quo Vadit?*” Handbook of the Sixth International Congreso of Parasitology (M. J. Howell, ed.), p. 196. Australian Academy of Science, Canberra and Brisbane, Australia.
- NANTULYA, V.M. Y LINQVIST, K. (1989).** Antigen – detection enzyme immunoassays for the diagnosis of *Trypanosoma vivax*, *T. congolense*, and *T. brucei* infections in cattle. *Tropical Medicine and Parasitology* **40**: pp 267 – 272.
- NANTULYA, V.M. (1990).** Trypanosomiasis in domestic animals: the problems of diagnosis. *Revue Scientifique Technique. Office International des Epizooties* **9**: pp 357 – 367.
- NOBLE, R. E. y NOBLE. G. A. 1965.** Parasitología. 2ed. Interamericana. México, D.F pp. 2, 277.
- OLSEN, O. W. 1977.** Parasitología Animal. Traducido de la 3 edición. Aedos. Barcelona , España pp. 28, 563 – 569.
- OTTE, M. J. y Col. 1992.** *Trypanosoma vivax* en Colombia. Epidemiology and production losses. First international seminary on Non Tse- tsé transmitted animal Trypanosomiasis. Anney, France pp. 1 – 7.
- PEJER, M. – WILKINSON. 1990.** Patología Clínica Veterinaria. 3 ed. Hispanoamericana. México, D.F pp. 366 – 368.
- PEREZ, C – IÑIGO. 1976.** Parasitología. Protozoos. 2 ed. Interamericana. México, D.F pp. 79 – 85.
- QUIROZ, R. H. 1989.** Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Limusa. México. Pp. 70 – 87.

- RHONE MERIUX. 1995.** Trypamidium, Un avance de la quimioprofilaxis. Rhone Merieux. Colombia S.A. Santa Fe, Bogotá pp. 1 – 12.
- RUDZINSKA, M.A y VICKERMAN, K. 1968.** The fine structure. In: Infectious blood diseases of man and animals. New York, EEUU. I, 217.
- SANINET, 2002,** Tripanosomiasis Africana. www.iicasaninet.net. 29/09/2002.
- SEIDL, A., DAVILA, A. M. y SILVA, R. A. M. S. 1999.** Estimated Financial Impact of *Trypanosoma vivax* on the Brazilian Pantanal and Bolivian Lowlands. *Memorias Instituto Oswaldo Cruz*, 94 (2): 269 – 272.
- SING, V., CHAUDHARY, S.S., KUMAR, S. Y CHHABRA. (1995).** Policlonal antibody – based antigen – detection immunoassay for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in buffalos and horses. *Veterinary Parasitology* **56**: pp 261– 267.
- SILVA, R.A.M.S., EGUES, A. MORALES, G. EULERT, E. IBANEZ, R. MONTENEGRO, A. SEIDL, A. DAVILA, R.A and RAMIREZ, L. (1998).** Bovine trypanosomiasis in Bolivian and Brazilian Lowlands. *Memorias Instituto Oswaldo Cruz* 93 (1):pp 29 – 32.
- SOULSBY, E. J. L. 1987.** Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ed. Interamericana. México, D. F pp. 513 – 551.
- STAAK, C. Y HOLDING, A. (1979).** The complement fixation test and African trypanosomiasis: I. Experimental infection and re – infection in the cattle before and after treatment. *Tropenmedizin und Parasitologie* **30**: pp 13 – 18.
- STEPHEN, L.E. (1986).** *Trypanosomiasis. A Veterianry Prespective.* (ed. Stephen, L. E.). pergamon Press. Oxford pp 4 - 15
- STEVENS, J.R. and GIBSON, w. (1999).** The molecular evolution of trypanosomes. *Parasitology Today*. 15 (11): pp 432 – 436.
- TIZARD, R. I. 1998.** Inmunología Veterinaria. 5ed. Mc Graw – Hill Interamericana. México, D.F p 238.
- URAKAWA, T., VERLOO, D., MOENS, L. BUSCHER, P. Y MAJIWA, O. (2001).** *Trypanosoma evansi*: cloning and expression in *Spodoptera fugiperda* insect cells of the diagnostic antigen RoTat 1.2. *Experimental Parasitology*. **99**: pp 181 – 189.
- VERLOO, D., HOLLAND, W., My, L.N., THANH, N.G., TAM, P.T., GOODEERIS, B., VERCRUYSEE, J. Y BUSCHER, P. (2000).** Comparison of serological tests for *Trypanosoma evansi* natural infections in water buffaloes from North Vietman. *Veterianry Parasitology*. **92**: pp 87 – 96.
- VERLOO, D., MAGNUS, E. Y BUSCHER, P. (2001).** General expression of RoTat 1.2 variable antigenic type in *Trypanosoma evansi* isolates from different origin. *Veterianry Parasitology*. **97**: 183 – 189.
- WELLS, E.A., BETANCOURT, A. and RAMIREZ, L.E. (1977).** Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the New World. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 71 (5): pp 448 – 449.

