

**DETERMINACIÓN DE LAS MEDIDAS MORFOMÉTRICAS
DEL *TRYPANOSOMA VIVAX* EN SANTA CRUZ BOLIVIA,
MEDIANTE LA BIOMETRÍA¹**

Arimosa M.D.², Gonzales J.L.³, Ribera C.H.³
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.G.R.M.

I.- RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar las medidas morfométricas del *Trypanosoma vivax* del Departamento de Santa Cruz Bolivia, mediante la biometría. Las muestras de *Trypanosoma vivax* fueron aisladas de los distintos lugares del Departamento en el laboratorio del LIDIVET. En total se realizaron 239 observaciones en frotis sanguíneo coloreados en tinción de Giemsa. Los resultados del largo total del *Trypanosoma vivax* fueron : San Matías con 13,71 μ m, Sin Origen 15,88 μ m (muestras llevadas al laboratorio cuyo origen exacto no fue reportado al laboratorio, pero eran provenientes del Departamento Santa Cruz), Zona Norte 17,04 μ m , San Ignacio 17,08 μ m y Guarayos 17,36 μ m. El análisis estadístico de los resultados fueron obtenidos mediante la comparación de medias T.test, encontrándose diferencias significativas entre las observaciones de San Matías con : Sin Origen, Guarayos, Zona Norte y San Ignacio. Si bien se ha encontrado diferencias significativas entre el procedente de las diferentes regiones, estas medidas están dentro de los parámetros establecidos, exceptuando los procedentes de San Matías, región en que el *Trypanosoma vivax* debe ser sometido a estudios moleculares de filogenia para su clasificación taxonómica específica, debido a su diferencia morfométrica con *Trypanosoma vivax* de otras regiones.

¹ Tesis de Grado presentada por Arimosa M. Daniel, para obtener el título de Médico Veterinario y Zootecnista.

² Dirección B/El Trigal UV 188, MZA 13.

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

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

II.- INTRODUCCIÓN

Nuestro territorio tiene grandes extensiones de tierras que no tienen un aprovechamiento de manera eficiente, pues tenemos una agricultura muy poco desarrollada y una producción pecuaria con serias limitantes como enfermedades endémicas, y la falta de políticas de gobierno para impulsar la producción, la prevención y la sanidad animal.

La tripanosomiasis, es una enfermedad parasitaria considerada de gran importancia, por el impacto económico negativo que esta acarrea a los grandes y pequeños ganaderos de la zonas tropicales ganaderas de América del Sur así como de Bolivia que cuentan con un gran potencial ganadero.

Esta enfermedad parasitaria que provoca grandes pérdidas económicas al sector ganadero especialmente la producida por el *Trypanosoma vivax*, además este parásito afecta también a otras especies de animales como ovinos, caprinos, camélidos y equinos.

El *Trypanosoma vivax* es un hemoparásito encontrado en las regiones donde habita la mosca tse-tse en Africa, y se ha difundido a Centroamérica, Sudamérica, Indias Occidentales e Islas Mauricio (SILVA Y COL., 2001).

La tripanosomiasis en América del Sur, fue reportada por primera vez por Leger y Vienne 1919, en la Guayana Francesa, desde entonces la enfermedad se diseminó en el continente llegando a Brasil y luego a las tierras bajas de Bolivia. Se cree que el *Trypanosoma vivax* ha llegado al

departamento de Santa Cruz mediante bovinos infectados proveniente del Norte del pantanal de Brasil.(Silva y Col, 1998).

En el Brasil la tripanosomiasis fue diagnosticada por primera vez en 1970, en búfalos, en el estado de Pará (Shaw & Lainson, 1972), pero en julio de 1995 fue detectada en bovinos en la región de Poconé, Pantanal del Estado de Mato Grosso en Brasil.(Silva y Col., 1996).

En Santa Cruz los primeros casos fueron detectados por LIDIVET entre enero y marzo de 1996 en la laguna Concepción (Provincia de Chiquitos), en animales procedentes del Norte del Pantanal Brasileño. Otro brote que se detectó fue en la Provincia Velasco frontera con Brasil, en la zona del pantanal muriendo bovinos sin discriminar raza, edad, sexo. También se detectó la enfermedad en la Provincia de Guarayos y Ñuflo de Chávez.(Aguilar Machado y Col.,1997).Informes del LIDIVET, confirmaron la presencia de la enfermedad también en el Departamento del Beni (Carrique Mas y Cuellar, 1998).

Según estudios realizados en el Dpto. de Santa Cruz se demuestra que la época lluviosa representa el período de mayor riesgo para la transmisión de la tripanosomiasis, debido a la abundancia de tábanos que son los vectores mecánico de la enfermedad (Hall y Col., 1993-2001)

El diagnóstico de la enfermedad, se hace de diferentes formas laboratoriales. Los métodos diagnósticos más utilizados son el de centrifugación de microhematocrito (Silva y Col., 2001), y los frotis coloreados en Giemsa, (Aguilar, 1997). Ultimamente el método de diagnóstico molecular como la reacción en cadena de la polimerasa, mas conocido como PCR, aparentemente ofrece la respuesta a los problemas de

sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la tripanosomiasis con respecto a las otras pruebas, tanto parasitológicas como serológicas.

Según Hoare,(1972), el rango de largo del *Trypanosoma vivax* es de 18 μ m a 31 μ m (incluyendo un flagelo libre de 3-6 μ m de largo) con medias de 21 μ m a 25,4 μ m, mientras que encima del 90% las medidas son entre 20 μ m y 26 μ m. Estudios morfológicos y biométricos en Sudamérica, muestran del *Trypanosoma vivax* medidas diferentes a los mencionados por Hoare.

Estudios biométricos muestran que el *Trypanosoma vivax* Sudamericano varía en longitudes promedio, este tiene un rango de longitud de 15,86 μ m a 23 μ m, en bovinos para Bolivia y con una longitud mínima reportada de 11,34 μ m en bovinos del Estado de Mato Grosso del Brasil (Dávila y Silva 1998).

El Departamento de Santa Cruz es por lo general el más importante en Bolivia con respecto a la producción económica. Con una población de 1.697.024 bovinos, es la más importante región ganadera de Bolivia. El gran número de ganado se encuentra en las extensas tierras bajas de las provincias de Ñuflo de Chávez, Guarayos, Velasco, Chiquitos, Angel Sandoval y Cordillera (Hall y Col, 1993).

Las enfermedades parasitarias en nuestro país afectan económicamente a los sectores productivos tanto grandes como pequeños productores provocando según la época, bajas en la producción animal, especialmente la tripanosomiasis provocada por los *Trypanosoma vivax* que son muy patógenos en los bovinos.

De ahí que haya la necesidad de poder identificar plenamente al parásito por sus estructuras morfométricas en la cual nos hemos propuesto a

proporcionar las medidas de *Trypanosoma vivax* para esta parte de Sudamérica y Bolivia, que aportarán facilitando el diagnóstico de la enfermedad mediante un método rápido como son los frotis coloreados en Giemsa..

Por esta razón es que este trabajo quiere presentar pautas al profesional veterinario para que por medio de ellas los ganaderos de Bolivia tengan a mano las medidas correspondientes del T.vivax para su identificación correcta por los métodos parasitológicos por ser el método de mayor uso.

Los objetivos de nuestro estudio fueron a).- Determinar las medidas morfométricas del *Trypanosoma vivax*, en Bolivia mediante la biometría.. b).- Establecer un cuadro de medidas morfométricas del *Trypanosoma vivax* en Bolivia. c).- Dar pautas a los veterinarios de campo para una identificación correcta del parásito.

III.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

3.1.- DEFINICIÓN DE TRIPANOSOMIASIS.

Sinonimia.- Tripanosomosis, tripanosis, tripanosomiasis.

Se da el nombre de tripanosomiasis a las enfermedades infecciosas agudas o crónicas, producidas por los tripanosomas, que son parásitos hemáticos de la clase de los flagelados, del grupo de los protozoarios, transmitidos,

con pocas excepciones, por moscas chupadoras de sangre (Hutyra - Marek, 1973).

3.2.- DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL *Trypanosoma vivax* EN BOLIVIA.

El *Trypanosoma vivax* en Bolivia se distribuye en el este Boliviano mas propiamente en las provincias de Chiquitos , Ñuflo de Chávez, Guarayos, Velasco (Dávila y Silva 1997), y la Provincia Germán Bush (Dávila y Silva 2001), del departamento de Santa Cruz.

Entre enero y mayo de 1996 numerosos caso de abortos, pérdida de peso anemia intensa y muerte de bovinos fue registrado en las provincias ya mencionadas del Departamento de Santa Cruz (Silva y Col. 1996) El *T.vivax* especialmente fue encontrado en frotis de sangre de bovinos procedentes de Laguna Concepción (prov. de Chiquitos) que arrojó una proporción de 86.20%; de positivos de un total de 29 animales observados con la prueba de concentración en tubo de microhematocrito (Carrique Mas y Cuéllar 1998) Se cree que el *Trypanosoma vivax* habría llegado al Departamento de Santa Cruz, a través de bovinos infectados provenientes del Norte del Pantanal de Brasil (Aguilar Machado, 1996).

Como en el Africa, hay una asociación temporal entre la estación de lluvias, cuando moscas hematófagas, particularmente *Tabanidae* son abundantes, y un aumento de la prevalencia de *T.vivax* en el ganado bovino en el Departamento de Santa Cruz en la región del Pantanal.. En esta región los estudios demostraron que los *Tabanidae* se encuentran en abundancia (35 especies) entonces es probable que la estación de lluvias represente el período de mayor riesgo de transmisión de

tripanosomas por estos insectos debido a la abundancia como por la alta población de especies de alto potencial del vector, como en el caso del *Tabanus importunus* encontrado en la región.. El *T.vivax* también afecta a varias especies de antílopes, para los cuales no es patógeno, siendo considerados importantes reservorios (Aguilar Machado 1996). Según datos de la propiedad Caparuch (Prov. Velasco) en esta hacienda localizada en el Pantanal se suscitaron 70 abortos y 40 muertos (3.33%) de un total de 1200 bovinos, esto entre febrero a mayo de 1996, meses que son muy lluviosos (Aguilar, S.L.A, 1996). Así como también en la región del Beni (Carrique Mas y Cuellar, 1998).

3.3.- TAXONOMÍA.

Phylum	Sarcomastigophora.
Subphylum	Mastigophora.
Clase	Zoomastigophorea.
Orden	Kinetoplastidea.
Familia	Tripanosomatidae.
Género	Trypanosoma.
Subgénero	Duttonella.
Especie	<i>Trypanosoma vivax</i> .

Phylum Sarcomastigophora.- Con flagelos, pseudópodos o ambos, núcleo único, generalmente no forma esporas, reproducción si existe, básicamente singamia.

Subphylum Mastigophora .- Trofozoítos con unos o más flagelos, reproducción asexual fusión binaria, en muchos grupos , se desconocen mecanismos de reproducción sexual.

Clase Zoomastigophorea.- Son protozoos flagelados, con uno o más flagelos en forma de látigo, algunos presentan pseudópodos. En algunas formas, el flagelo recorre a lo largo del cuerpo, unido a él por una membrana ondulante . El núcleo es de tipo vesicular, y la reproducción se lleva a cabo por fisión binaria longitudinal.

Orden Kinetoplastida.- Uno a cuatro flagelos, kinetoplasto asociado a mitocondrias, la mayoría son parásitos.

Familia Trypanosomatidae.- Con forma de hoja pueden ser redondeadas.

Género Trypanosoma.- Los miembros de este género se presentan en vertebrados, en la sangre y tejidos fluidos. Son transmitidos por artrópodos hematófagos, en los que se desarrollan las fases evolutivas como la fase de epimastigote y las formas infectantes llamada trypomastigotes metacíclicos que son patógenas para el hombre y los animales (Soulsby, 1987).

Subgénero Duttonella.- Tiene el kinetoplasto terminal .El extremo del cuerpo es redondeado, membrana ondulante poco desarrollada. Su desarrollo tiene lugar exclusivamente en la probóscide de la mosca *Glossina* spp.

Especie *Trypanosoma vivax*.- Tiene las formas largas, y parasita a bovinos, cabras, antílopes (Soulsby, 1987).

3.4.- MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LOS TRIPANOSOMAS.

La característica más importante es la estructura general de las formas sanguíneas como ser la tripomastigote, reveladas en preparaciones coloreadas y examinadas a través de la microscopía óptica.. Varias especies de tripanosomas pueden diferir en el tamaño y forma del cuerpo, la posición del núcleo, el kinetoplasto, así como el grado de desenvolvimiento de la membrana ondulante y del flagelo (Aguilar Machado 1996). Los tripanosomas tienen forma lanceolada fusiforme, en su extremo anterior se encuentra el flagelo libre, los *Stercoraria* terminan en punta casi aguda y los *Salivaria* en punta roma redondeada. El kinetoplasto se halla cerca del extremo posterior y está formado por el cuerpo parabasal (posee forma de bastón o esférica) y el blefaroblasto, cerca del centro del cuerpo está el núcleo ovoide relativamente grande, el cual contiene un cariosoma que se tiñe con mayor intensidad. Hay una membrana ondulante a lo largo del organismo y al margen de ella en su extremo libre, recorre el flagelo que emerge del blefaroblasto y se extiende más allá del citoplasma en el extremo anterior. Además posee en su citoplasma gránulos metacromáticos que son perceptibles. Posee otras estructuras perceptibles al microscopio electrónico como ser macro y micro-túbulos en su extremo anterior, mitocondrias y retículo endoplásmico, que bordean el núcleo, entre el núcleo y el kinetoplasto se encuentran el aparato de golgi y el lisosoma (Levine, 1973; Smith y Jones, 1987).

3.4.1.- MORFOLOGÍA EXTERNA.

El *T. vivax* es una especie monomórfica, de 20-27 μm (media 22.5 μm) por 3 μm . Su porción posterior, más ancha y bulbosa, es inconfundible, el kinetoplasto es grande y terminal y presenta un flagelo libre, corto de 3-6 μm de longitud. (SOULSBY, 1987)

Las formas tripomastigotas encontradas son básicamente el cuerpo alargado y achatado. Al corte transversal se presenta elíptico u oval y sus extremidades son puntiagudas. Se acostumbra describir la extremidad con la cual avanza entre los eritrocitos durante la locomoción como anterior final. Típicamente termina en un fino punto, en cuanto a la parte posterior final del parásito varía en la forma, generalmente es más larga, apuntando mas abruptamente o terminando en una forma de rombo, presentando la punta redondeada.(Aguilar Machado 1996).

3.4.2.- MORFOLOGÍA INTERNA.

Las principales organelas de un tripanosoma son el núcleo, el kinetoplasto, el sistema mastigote representado por el cuerpo basal y el flagelo. (Aguilar Machado, 1996). El núcleo es oval y se orienta longitudinalmente. (Hoare, 1972).

3.5.- MORFOMETRÍA.

En estudios que datan de muchos años se determinó dar medidas para caracterizar a los *T. vivax*, como las descritas por SOULSBY, (1987) de 20-27 μm de longitud por 3 μm de ancho. Según Hoare (1972), el rango de longitud de *T. vivax* es desde 18 μm a 31 μm (incluyendo el flagelo libre de 3-6 μm), pero estas medidas promedios no se pueden aplicar en el caso

de los *T. vivax* del pantanal Boliviano que tienen una longitud media de $15.86\mu\text{m} \pm 2.23$ (Dávila y Col. 1997).

Las medidas normalmente usadas son : Largo total del parásito, incluye el flagelo libre si acaso presenta (L); largo del flagelo libre (F); posterior final del parásito al kinetoplasto (P-k); kinetoplasto al punto medio de el núcleo (k-N/2); punto medio de el núcleo al anterior final de el cuerpo (N/2-A); (Hoare 1972).

3.5.1.- MEDIDAS (μm) DEL *Trypanosoma vivax* AISLADO DE CENTROAMERICA Y SUDAMERICA..

Area	L	PK	KN	PN	NA	F	PK/KN	PN/NA
<i>Referencia</i>	18-31					3-6		
<i>Bolivia, Santa Cruz</i>	15.86	0.54	5.05	5.59	5.90	4.35		0.96
	2.23*	0.51	1.07	1.15	0.76	1.26		0.24
<i>Bolivia, Puerto Suarez</i>	17.35	0.99	5.25	6.24	5.77	5.33		0.87
	1.65	0.51	0.68	0.83	0.68	0.83		0.12
<i>Brasil,Pará</i>	22.27	0.65	6.16	7.60	8.22	6.92		0.94
	1.38	0.25	0.57	0.57	1.08	1.03		0.24
<i>Brasil, Mato Grosso</i>	18.73	1.02	6.10	7.18	5.40	6.15		1.50
	3.8	1.16	1.29	1.18	1.63	2.38		0.72
<i>Brasil, Mato Grosso do Sul</i>	18.1	0.30	7.46	7.76	6.03	4.3		1.34
	2.04	0.53	1.56	1.59	1.18	0.87		0.37
<i>Colombia</i>	21							
<i>Guayana Francesa</i>	22-23	0.80	5.50	6.3	7.20	6.00	1.14	0.87
<i>Guayana Francesa</i>	20.3	1.10	6.00	7.1	5.70	7.50	1.18	1.24
	0.55	0.17	0.22	0.16	0.37	0.40	0.04	0.08
<i>Panamá</i>	21.38							
<i>Venezuela</i>	21.52	0.82	6.02	6.83	7.83	6.86	1.13	0.87
	1.17	0.19	0.47	0.54	1.03	1.32	0.06	0.14
<i>Venezuela</i>	22.00							
<i>Surinam</i>	21.00							

Surinam	21.50							
---------	-------	--	--	--	--	--	--	--

Fuente: Dávila y Col.. (1998).

3.5.2.- COMPARACIÓN ENTRE EL *Trypanosoma vivax* AFRICANO Y EL *Trypanosoma vivax* SUDAMERICANO.

El *T.vivax* en América es morfológicamente similar a las formas africanas. En Africa dos tipos de tripanosomas son descritos y muestran las diferencias en sus rasgos morfológicas y biológicas. En el Oeste Africano las formas son cortas cuyo largo promedios oscila desde 21.4 a 24.6 μm y en el Este africano son largos, con promedios de largo entre 23.6 a 27.0 μm (Fairbain,1953). Estudios morfológicos en Sudamérica en *T. vivax* sugieren que las formas de los parásitos son morfológicamente similares al *T.vivax* que parasita al Oeste Africano (Shaw y Lainson 1972; Wells 1984; Dávila y Col. 1998). Shaw y Lainson (1972) compara el patrón patológico de los decesos causados por tripanosomas del Oeste y Este Africano con patrones naturales de infección certificada con *T.vivax* en Sudamérica en búfalos e infección de ovejas en laboratorios. Ellos encuentran patrones similares de infección causadas por parásitos Sudamericanos y del Este Africano, por el contrario reportan que el *T.vivax* del Este Africano produce decesos más agudos que aquellos parásitos de Sudamérica..

El *Trypanosoma vivax* africano se describe clásicamente por presentar extremidad redondeada. Sin embargo, ciertas cepas se presentan como formas mas finas. El *T.vivax* sudamericano tiene un rango de longitud de 16 μm a 26.5 μm , apareciendo más corto que las especies descritas originalmente. Estudios biométricos recientes muestran que el *T.vivax* sudamericano varia en longitudes promedio de 15.86 a 23 μm , con una longitud mínima reportada de 11.34 μm . Debido a que actualmente existe poca información sobre la patogenicidad natural, la epizootiología y la

morfología de los tripanosomas similares a *T.vivax* que infectan los animales domésticos en las Américas, se necesita una descripción mas detallada de las características morfológicas y el rango de hospederos de *T.vivax* en las Américas.(Dávila, y Col. 1998.)

3.5.3.- DIFERENCIAS MORFOLÓGICAS Y BIOMÉTRICAS ENTRE *Trypanosoma vivax* AISLADOS DE BOLIVIA Y BRASIL.

El *Trypanosoma vivax* originado en Africa también es encontrado en Centro América, Sudamérica, en la Indias Occidentales y las Islas Mauricio (Levine, 1973). El *Trypanosoma vivax* fue reportado en el Nuevo Mundo en los primeros tiempos en la Guayana Francesa (Leger, M.& Vienne, M. 1919) y mas tarde en otras partes de Sudamérica, Centroamérica y algunas islas del Caribe (Meléndez y Col, 1995), el *T.vivax* se reportó por primera vez en Brasil cuando se certificaba su presencia en búfalo de agua a partir de un brote en la ciudad de Belém, (Shaw y Lainson, 1972). Silva,(1996) reportó las primeras ocurrencias de *T.vivax* en el Pantanal, región del Brasil en la frontera con Bolivia y en el mismo año estos parásitos se encontraron en Bolivia.

Según Hoare, (1972) el rango de largo del *Tripanosoma vivax* es desde 18 μm a 31 μm (incluyendo el flagelo libre de 3-6 μm de largo) con medias desde 21 μm a 25.4 μm mientras que encima del 90% de las medidas son entre 20 μm y 26 μm . En estudios biométricos de aislados del Pantanal (Brasil) y Santa Cruz (Bolivia) se midieron entre 80 y 100 especímenes a partir del frotis delgado utilizando aislados para el estudio biométrico. Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando la prueba de T.test.. La diferencia en el largo entre aislados del Pantanal (18.73 μm), Pará (22.77 μm reportado por Shaw y Lainson) y Bolivia (15.86 μm) son

Comentario [D1]:

altamente significativa. Basado en Hoare y Broom el tamaño del aislado de Bolivia está fuera del rango normal y podría ser suficiente criterio para clasificarlo como *Trypanosoma uniforme*. Las diferencias biométricas son altamente significativa entre aislados y sólo la distancia desde el kinetoplasto al posterior final entre parásitos bolivianos y brasileños (Belem) y la distancia desde el kinetoplasto al núcleo entre tripanosomas brasileños no son significativas. Los resultados muestran similitud en la posición subterminal del kinetoplasto entre parásitos Bolivianos y Brasileños.

El cuerpo del parásito de Santa Cruz, de las provincias Germán Bush, Velasco y Chiquitos, en su parte posterior final es redondeado y más ancho que el tripanosoma de Poconé. No obstante los parásitos de Poconé son más estrechos que el de Santa Cruz hacia el anterior y posterior final. El kinetoplasto de los parásitos de Poconé es más ovalado que aquellos de Santa Cruz. En el anterior, el kinetoplasto son laterales y subterminales en los últimos son más terminales. El flagelo libre del tripanosoma boliviano es más corto que el de los tripanosoma de Poconé y Belém. Los núcleos de los parásitos Bolivianos son grandes y más redondeados que aquellos de Poconé. Fairbairn muestra que aquellas formas cortas son características de las cepas que causan agudo deceso en ganado del oeste de Africa, mientras que formas largas son asociada sobre todo con cepas que causan infección crónica en el este de Africa. Estudios recientes empleando técnicas moleculares como RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) proveen evidencia que el *T.vivax* sudamericano se originó del Oeste de Africa (Dirie, M.F. Y Col. 1993). Reportes en Sudamérica y los casos clínicos en brotes de tripanosomiasis en Sudamérica podría relacionarse con los *T.vivax*. (Dávila y Col., 1997).

En resumen el *T.vivax* sudamericano, está compuesto de características patogénicas del *T.vivax* del Este africano y morfológicas del *T.vivax* del Oeste africano como ser tamaño y forma, pero el *T.vivax* del Pantanal Boliviano tiende a ser mas pequeño que el resto de los *T.vivax* del Brasil y de otras partes de Sudamérica..

Los diferentes tamaños y formas de los *T.vivax* de Sudamérica, más propiamente los de la parte boliviana, nos interesan debido a los problemas económicos que estos pueden acarrear en el sector ganadero y su correcta identificación es muy importante para establecer un cuadro de medidas del *T.vivax* en Bolivia.

3.6.- EPIDEMIOLOGÍA.

El *T.vivax* ha sido identificado en el Nuevo Mundo desde 1919 (Leger y Vienne). La teoría más acertada es que el parásito fue introducido desde Senegal, Africa. con una partida de vacunos en 1830 (Curasson, 1943) y después se difundió de un país a otro con los ulteriores traslados de los vacunos. Hasta 1976 la distribución conocida abarcaba todos los países de la costa noratlántica de la América del sur, más Panamá, el noreste del Brasil y las islas de Guadalupe y Martinica.(Wells y Col., 1982).

El *Trypanosoma vivax* infecta un gran número de especies de ungulados salvajes y domésticos. En el Africa el *T.vivax* es responsable por la tripanosomiasis en equinos bovinos y otros rumiantes. Los camellos son también susceptibles al *T.vivax*. Los canes y los cerdos son refractarios a la infección (Aguilar, 1996).

El tripanosoma es transmitido cíclicamente por la moscas tsetsé y mecánicamente por otras moscas hematófagas. La mosca de los establos y otros tábanos pueden ser vectores solamente en las Américas y en las áreas de Africa donde no hay la mosca tsetsé (Levine, 1973).

Para comprender mejor la introducción de la tripanosomiasis y su propagación en Bolivia por tábanos, Hall y Col., (1993), dividieron las regiones según el grado de infestación por tábanos, en tres una zona de baja abundancia de tábanos caracterizada por un clima seco y localizada al sur de departamento, otra moderada agrupando las provincias cercanas a la ciudad de Santa Cruz de la Sierra y una última con abundancia alta de estos insectos caracterizada por un clima más húmedo y localizada en la parte Norte del departamento. Los primeros brotes se reportaron en la provincia Chiquitos (LIDIVET 1996) luego se reportaron en provincias como Ñuflo de Chávez, Velasco, Guarayos y Chiquitos (Silva y Col., 1998), posteriormente en provincias como Angel Sandoval, Velasco (1998), en 1998 en la provincia Andres Ibáñez y se confirmaron brotes en la provincia Sara (LIDIVET,1999).

En las provincias donde se confirmaron focos se encuentran en las zonas de abundancia alta en tábanos (Ñuflo de Chavez, Guarayos y Chiquitos) y moderada (Andres Ibañez y Sara); no se confirmó ningún brote en la zona de baja abundancia de tábanos, lo cual provee de una mayor incriminación de los tábanos como transmisores de los tripanosomas (Gonzales, 2002).

Según Aguilar, M.(1996) hay una asociación temporal con la estación de las lluvias, cuando moscas hematófagas particularmente *Tabanidae* son abundantes, hay un aumento de la prevalencia del *T.vivax* en el ganado bovino. En el Pantanal, estudios demostraron que la estación de los

Tabanidae ocurre en la primera mitad de la época lluviosa de Septiembre - Octubre a Diciembre - Enero. Los tábanos permanecen en grandes números antes del final de la estación.

Esta estación representa el período de mayor riesgo de transmisión del tripanosoma por esos insectos debido a la abundancia de la población del vector, como en el caso del *Tabanus importunus* (Barros, 1994).

Barros (1992) identifica 25 especies de *Tabanidae* en efecto 15 géneros y tres subfamilias en el pantanal y Hall y Col, (1993) identifican 35 especies de *Tabanidae* pertenecientes a 16 géneros en el departamento de Santa Cruz.

El *T.vivax* fue encontrado en frotis de sangre de bovinos enviados al LIDIVET, Bolivia, como en las muestras de sangre recogidas de bovinos en la región de la Laguna Concepción y posteriormente procesadas por el método de "Buffy Coat". Se acredita que el *T.vivax* tenga su llegada al departamento de Santa Cruz a través de bovinos infectados provenientes de Norte del Pantanal, en Brasil (Aguilar, 1996).

Aguilar, (1998) mediante el método de coloración en Giemsa, reportó una prevalencia de 1.33%, en la provincia Velasco de Santa Cruz de la Sierra a la cual se la considero baja. En cambio Fontes,(2002) mediante la prueba del PCR (Prueba de la Reacción de la Polimerasa) reportó una prevalencia de 4.8% en el municipio de Guarayos, considerandose en alza el nivel de infección de la tripanosomiasis.

3.7.- DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO.

Los métodos para el diagnóstico parasitológico, son basados en la identificación de tripanosomas durante la fase de la corriente sanguínea.. Frotis de sangre son un método de diagnóstico rápido, y son muy convenientes para en caso de laboratorios lejanos. Frotis de sangre coloreados con Giemsa, permiten el reconocimiento de las especies de parásitos basado en la morfología del tripanosoma (Gonzales, 2002)

Las infecciones se diagnostican mediante la demostración de los organismos en sangre periférica (Losos e Ikede) Aunque las improntas de ganglios linfáticos se han citado como las más eficaces en los fines diagnósticos (Soulsby, 1987), Losos e Ikede (1972) consideran que las evidencias derivadas de este tipo de análisis no son concluyentes. Los métodos serológicos que detectan antígenos, ya fueron descartados para el diagnóstico de la tripanosomiasis, debido a su baja sensibilidad y especificidad (Desquesnes, 1997 y Eisler y Col. 1988).

El diagnóstico presuntivo se basa en encontrar un animal anémico, en malas condiciones, en un área endémica. La confirmación dependerá de demostrar tripanosomas en frotis sanguíneos teñidos, o en montajes húmedos. El método rápido mas sensible consiste en examinar un montaje húmedo del área de capa flogística de un tubo de hematocrito, después del centrifugado (Merck, 1988).

Los métodos de diagnósticos parasitológicos más frecuentemente utilizados son los frotis coloreados en Giemsa (GSS), método de microhematócrito o método de Woo (HCT), método de (Buffy Coat) e inoculación en ratones (Monzón y Col. 1990). El método de inoculación en ratones da una sensibilidad de 88.2%, HCT 71.1%, BCM 61.4 y GSS 45.6%.

Según los mismos autores los métodos HCT, inoculación en ratones y los frotis coloreados en Giemsa fueron propuestos como la combinación mas efectiva.

La constante y baja parasitemia es común en *T.vivax* y *T.evansi*, lo cual hacen el exacto diagnostico parasitológico especialmente dificultoso cuando son aplicados a estudios epidemiológicos. Su baja sensibilidad hace de estas técnicas no apto para la detección de animales infectados en forma crónica. No obstante la falta de condiciones en Sudamérica con dificultades y retrasos para métodos sofisticados, hace de estos métodos herramientas valiosas para confirmar casos clínicos y para aplicarse durante los brotes de la enfermedad, como los vividos en el país los últimos años dela década de los 90.

IV.- MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1.- MATERIALES PARA LA MEDICIÓN.

4.1.1.- MUESTRAS.

En el presente trabajo se realizaron 239 observaciones positivas a *Trypanosoma vivax* en frotis coloreados con tinción de Giemsa realizadas en laboratorio de hematología del LIDIVET, láminas recolectadas de los diferentes lugares de observación en muestreos epidemiológicos realizados por mencionado laboratorio. El origen de las muestras observadas fueron Guarayos, San Matías, Zona Norte, San Ignacio. Se observó un grupo de muestras cuyo origen no fue reportado al laboratorio pero eran provenientes del Departamento de Santa Cruz, este grupo fue denominado en este estudio como "Sin Origen".

4.1.2.- MATERIAL DE TINCIÓN DE LÁMINAS.

- ◆ Láminas de vidrio con frotis de sangre.

- ◆ Alcohol metílico para fijar.
- ◆ Colorante Giemsa.

4.1.3.- MATERIAL DE MEDICIÓN.

- ◆ Microscopio.
- ◆ Micrómetro.

4.2.- MÉTODOS.

4.2.1.- MÉTODOS DE MEDICIÓN.

En el trabajo realizado se midió el largo o longitud del parásito que incluye el flagelo libre (L); largo del flagelo libre (F); posterior final del parásito al kinetoplasto (PK); del kinetoplasto al punto medio del núcleo (KN); del posterior final al núcleo (PN); punto medio del núcleo al anterior final del cuerpo (NA); ancho del parásito y ancho del núcleo.

4.2.2.- MÉTODO ESTADÍSTICO.

Para el análisis estadístico, el método estadístico se basó en la comparación de medias T.test.

V.- RESULTADOS.

5.1.- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS OBSERVADAS.

Para una comprensión mejor de los resultados del trabajo de Biometría del *Trypanosoma vivax* primeramente se hará una descripción detallada de la morfología del parásito.

En los *Trypanosoma vivax* encontrados en el presente trabajo se observó su porción posterior, mas ancha y bulbosa, en los parásitos encontrados en Guarayos con 1-3 μm de ancho y generalmente con kinetoplasto subterminal grande y lateral, con un flagelo entre 2-8 μm de longitud y un núcleo grande de longitudinal a redondeado. (Fig. N° 1)

Los de la Zona Norte también tiene las mismas características excepto que son mas anchos y bulbosos, miden entre 1-4 μm de ancho, kinetoplasto subterminal grande y lateral con un flagelo de 3-8 μm de longitud. (Fig.N°2)

Los parásitos de Sin Origen la mayoría tienen kinetoplasto terminal en gran parte, y la gran mayoría son delgados midiendo entre 1-3 μm de ancho con un largo del flagelo de 2- 6 μm de longitud (Fig.N°3)

San Ignacio presenta parásitos de tamaño más uniforme con relación a las otras observaciones con kinetoplasto en su mayoría subterminal y grande con flagelo entre 4-7 μm de largo y el ancho de 1-3 μm .(Fig.N°4)

Finalmente tenemos a San Matías con los parásitos más pequeños de todas las observaciones con kinetoplasto terminal pequeño lateral pero notorio con núcleo longitudinal, el ancho del parásito entre 1-2 μm y con flagelo corto entre 1-5 μm de largo.(Fig.N°5)

FIGURA N°1

GUARAYOS



FIGURA N°2

ZONA NORTE

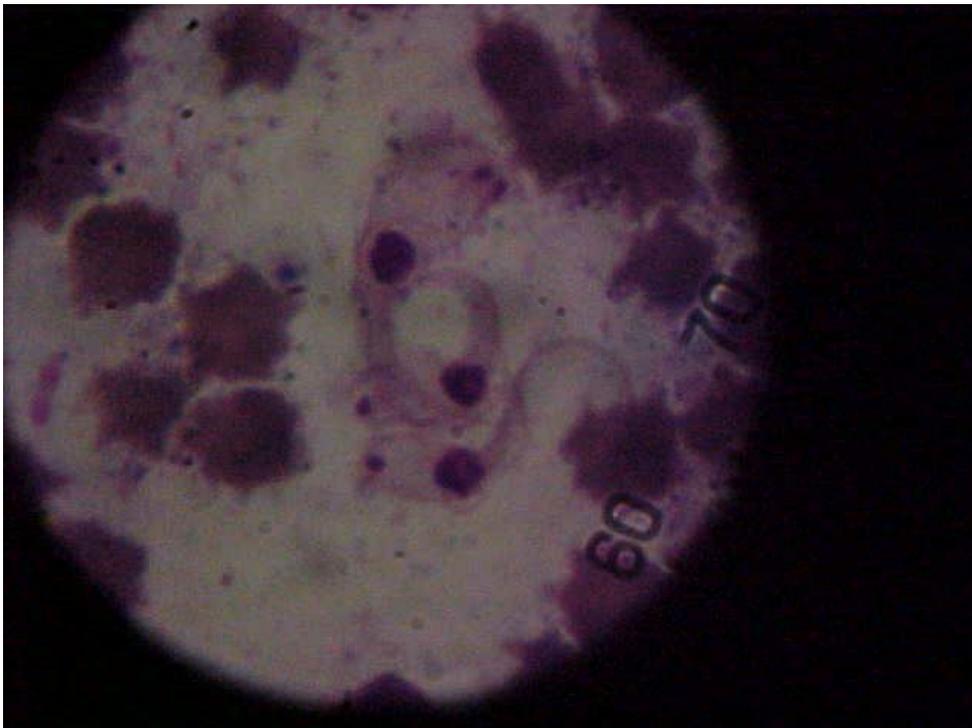


FIGURA N°3

SIN ORIGEN

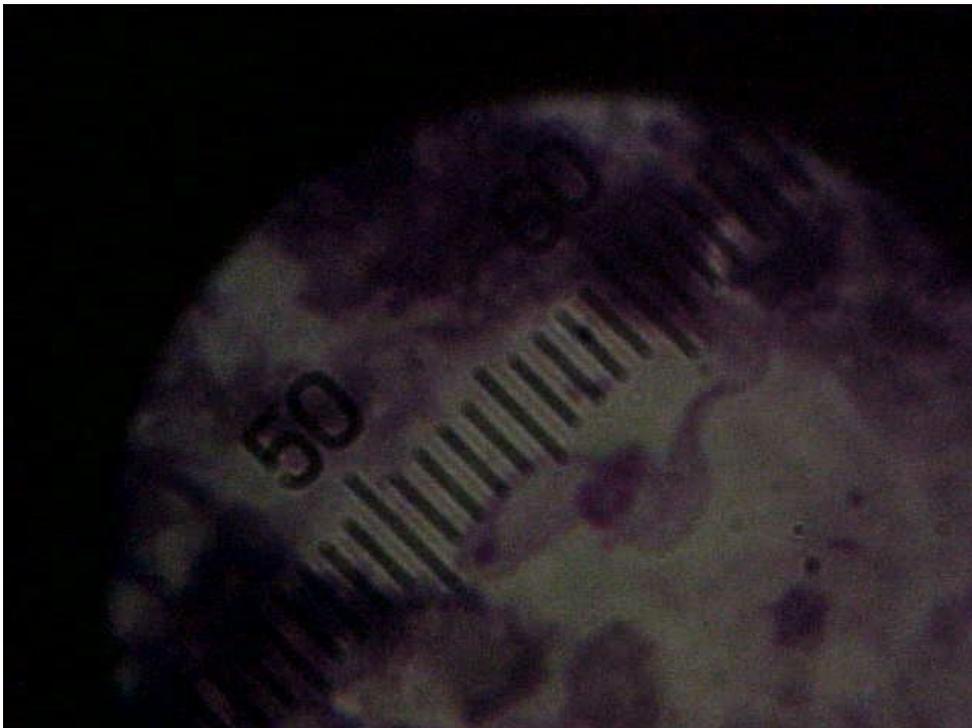


FIGURA N°4

SAN IGNACIO

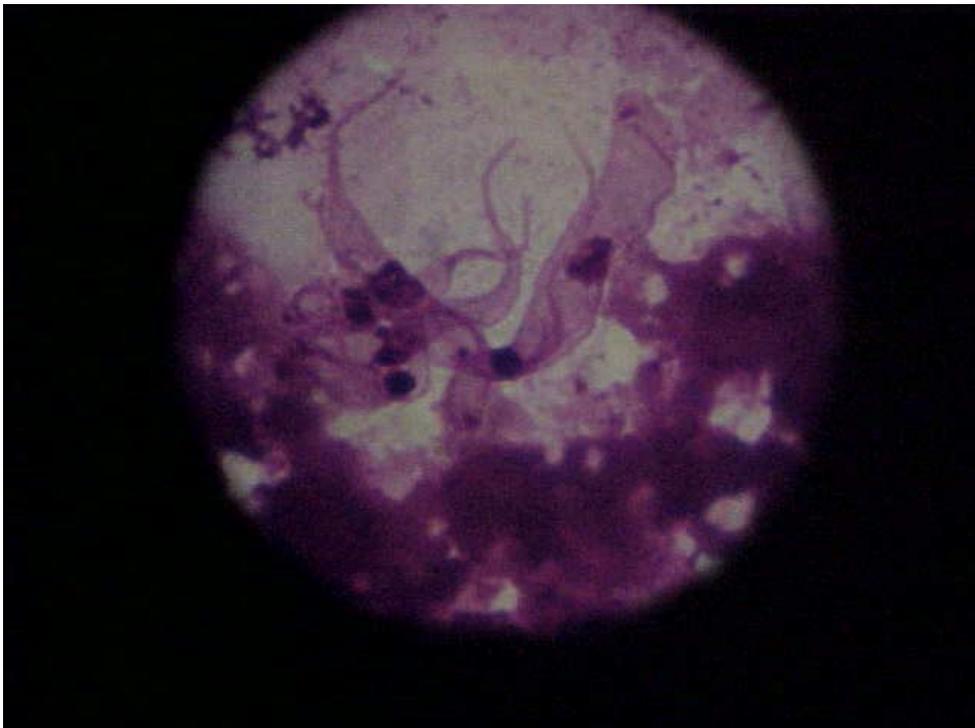


FIGURA N° 5

SAN MATIAS

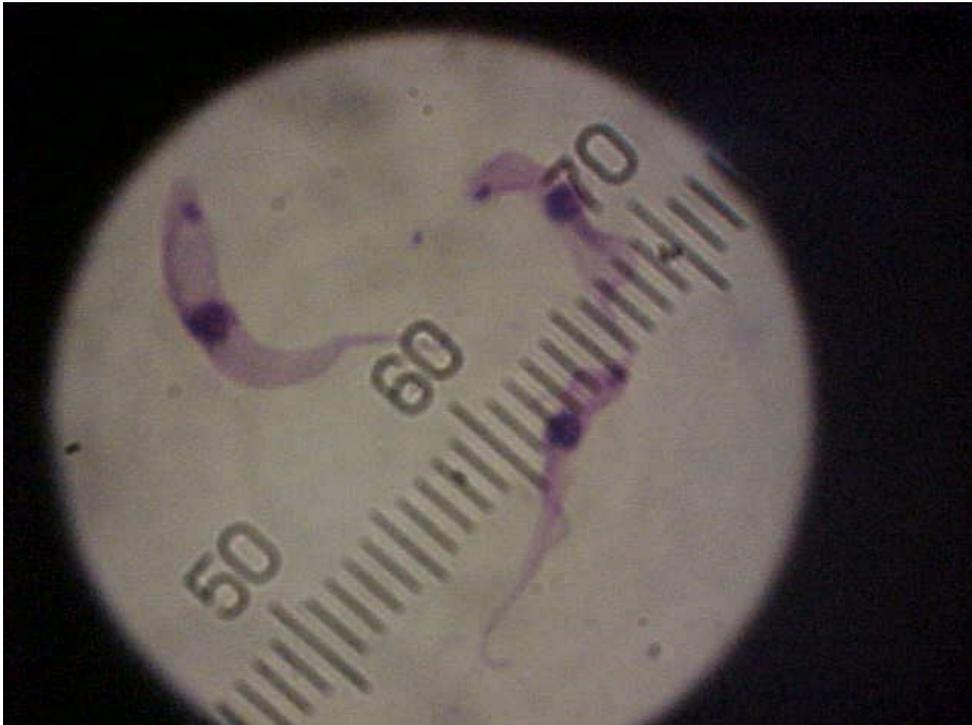
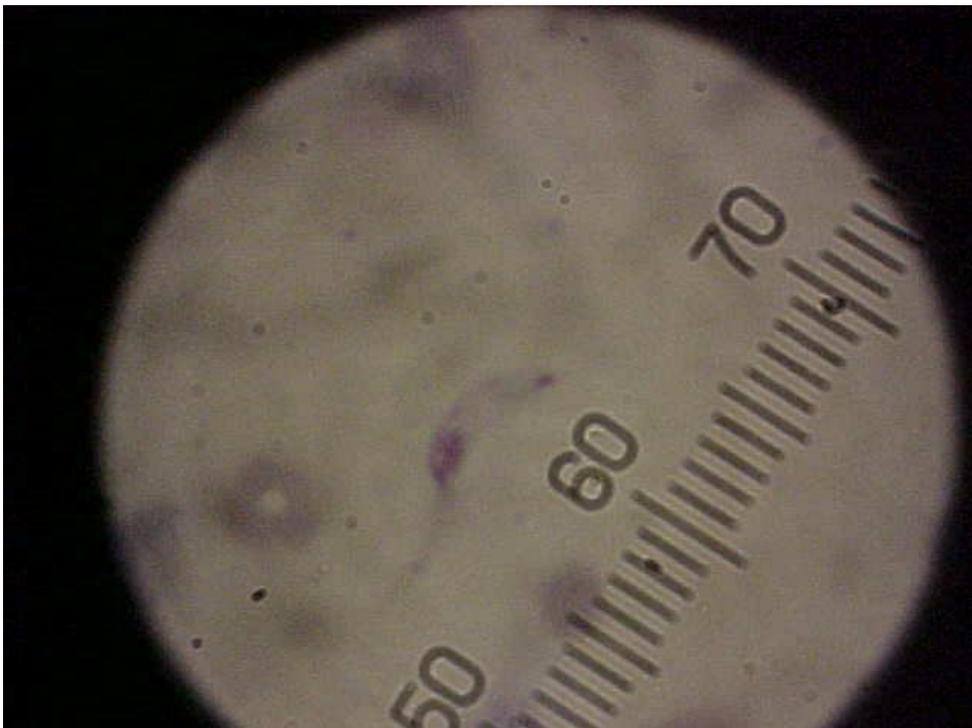


FIGURA N° 6

SAN MATIAS



5.2.- MEDIDAS OBTENIDAS DE LOS *Trypanosoma vivax* DE LAS DIFERENTES REGIONES DE SANTA CRUZ BOLIVIA.

Las medidas obtenidas fueron de 239 observaciones positivas a *Trypanosoma vivax* de diferentes regiones de Santa Cruz, Bolivia.

La variable mas importante sería el largo total del parásito, los cuales se presentaron de la siguiente forma: San Matías con $13,71\mu\text{m}$ y una DS de $\pm 2,04\mu\text{m}$; luego los de Sin Origen con $15,88\mu\text{m}$ con una DS de $\pm 2,68\mu\text{m}$; luego la Zona Norte que comprende provincias como Sara, Obispo Santistevan, Ichilo y Warnes, con una media de $17,04\mu\text{m}$ con una DS de $\pm 1,32\mu\text{m}$ posteriormente San Ignacio con una media de $17,08\mu\text{m}$ y una DS de $\pm 1,04\mu\text{m}$. Por último Guarayos con una media de $17,36\mu\text{m}$ y una DS de $\pm 2,26\mu\text{m}$; (CUADRO N°1)

Comentario [D2]:

CUADRO N° 1

MEDIDAS MORFOMÉTRICAS DE DIFERENTES ZONAS DE SANTA CRUZ.

ORIGEN	LARGO	PK	KN	PN	NA	F	ANCHO	NUCLEO
SAN MATIAS μ	13,7175	0,4067	4,8491	5,2830	5,1226	3,2925	1,2925	1,0283
DS \pm	2,0423	0,4964	0,8596	0,06437	1,1768	1,2944	0,4411	0,1351
SIN ORIGEN	15,8750	0,5312	4,7500	5,3125	6,4375	4,2500	1,6563	1,2188
DS	2,6802	0,8056	0,7746	1,0145	2,1593	1,1832	0,7899	0,4070
ZONA NORTE	17,0408	1,1020	4,1600	5,3061	6,2000	5,4694	2,8878	2,8878
DS	1,3222	0,5202	0,9208	0,6193	1,1700	1,1565	1,0321	1,0321
SAN IGNACIO	17,0769	0,6194	4,1538	4,7600	7,3846	4,8462	2,0000	1,6923
DS	1,0377	0,5064	0,8987	0,5991	1,3253	1,2142	0,4082	0,3840
GUARAYOS	17,3636	1,1091	4,8727	5,7091	6,1818	5,4585	1,9364	1,3546
DS	2,2556	1,2122	1,1065	1,1000	1,3484	1,4378	0,6601	0,4682

PK = distancia entre el posterior final y el kinetoplasto; KN = distancia entre el kinetoplasto y el núcleo; PN = distancia entre el posterior final y el núcleo; NA = distancia entre el núcleo y el anterior final; F = largo del flagelo libre; μ = media ; \pm = DS = desviación estándar .

De un total 106 muestras recolectadas de San Matías, en la que la media del largo promedio es 13,71 μ m, se pudo constatar que entre los mínimos se encuentra con 10 μ m, y la máxima encontrada fue de 19 μ m, podemos

decir que fue uno de los lugares con gran mayoría de *Trypanosoma vivax* de menor longitud. (CUADRO N°2)

Los Sin Origen fueron muestras enviadas al laboratorio que no tenían identificación de su origen, en total sumaron 16 observaciones con un largo promedio de 15,88 μm . Entre los parásitos que tuvieron menor longitud se encontraron con 13 μm y los de mayor longitud se encontró con 21 μm . (CUADRO N°2)

En cuanto a la Zona Norte, el largo promedio oscila en 17,04 μm con mínimos de 14 μm y máximos de 21 μm . (CUADRO N°2)

Posteriormente San Ignacio con parásitos con un largo promedio de 17,08 μm , con un mínimos de 16 μm de longitud y un máximo de 19 μm de longitud. (CUADRO N°2).

Por último de Guarayos se midieron un total de 55 observaciones con largos promedios de 17,36 μm , con parásitos de largos mínimos de 11 μm y máximos de 22 μm , en esta zona se encontró los parásitos con mayor longitud que el resto de las demás zonas. (CUADRO N°2)

CUADRO N°2

MEDIAS DEL LARGO TOTAL PROMEDIO DE LOS *Trypanosoma vivax* EN EL ORIENTE BOLIVIANO.

AREA	PRESENTACIÓN	N°	LARGO TOTAL (µm)										
			10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SAN MATIAS	BOVINOS a	106	-----°-----										13,7175
SIN ORIGEN	BOVINOS c	16	-----°-----										15,8750
ZONA NORTE	BOVINOS b	49	-----°-----										17,0408
SAN IGNACIO	BOVINOS bc	13	-----°-----										17,0769
GUARAYOS	BOVINOS b	55	-----°-----										17,3636

Zonas con distinto superíndice tienen diferencias significativas $P < 0,05$.

En el presente trabajo se presenta a San Matías como la zona donde se encontró parásitos de menor tamaño con una media de longitud de 13,71µm encontrándose diferencias significativas con los otros lugares de observación, que presentaron una media máxima de 17,36µm, siendo estos últimos de Guarayos.(CUADRO N°2)

No se encontraron diferencias significativas entre las medias del largo total, entre las medidas de las regiones de Guarayos, Zona Norte y San Ignacio. Pero si se encontraron diferencias significativas entre las medidas de Sin Origen con las de la Zona Norte y Guarayos. (CUADRO N°2).

5.3.- COMPARACIÓN DE LA MEDICIONES OBTENIDAS EN EL PRESENTE ESTUDIO CON LAS MEDIAS REPORTADAS DE LOS *Trypanosoma vivax* EN BOLIVIA Y BRASIL.

Dávila (1998) reportó que los *Trypanosoma vivax* sudamericanos varían en sus largos promedios de 15,86 μ m a 23 μ m en bovinos de Bolivia (Santa Cruz, Dpto) y Guyana Francesa respectivamente, reportó un largo mínimo de 11,34 μ m en bovinos de Mato Grosso, Brasil; un largo máximo de 22,77 μ m en el estado de Pará del mismo país. Este autor realizó las mediciones de *Trypanosoma vivax* de Santa Cruz y Puertos Suarez y las comparó con las medias de las mediciones que él mismo realizó en *Trypanosoma vivax* de los estados brasileños de Matogrosso y Matogrosso do Sul, concluyendo que existía una diferencia altamente significativo entre los aislados brasileños con los bolivianos.

CUADRO N°3

<i>Cuadro del número de mediciones y la media en Bolivia y Brasil</i>			
Referencia	Número de medidas	Largo medio (μ m)	D.S*
Bolivia, Santa Cruz	80	15,86	2,23
Bolivia, Puerto Suarez	45	17,37	1,65
Brasil, Mato Grosso	100	18,73	3,80
Brasil, Mato Grosso do Sul	50	18,10	2,04

Fuente: Dávila, 1998.(* Desviación estandar).

En este trabajo se realizó una comparación de las medidas obtenidas de las distintas zonas del departamento de Santa Cruz, con las medidas realizadas por Dávila (1998) en aislados del mismo departamento y se encontró que existía una diferencia altamente significativa, solo entre los *Trypanosoma vivax* medidos de San Matías, con las mediciones reportadas de Santa Cruz y Puerto Suarez, por Dávila (1998). No se encontraron diferencias significativas de los mediciones de los parásitos de Zona Norte, Guarayos, Sin Origen y San Ignacio versus las medias reportadas por Dávila (1998).

5.4.- RESULTADO GENERAL DE LAS OBSERVACIONES.

	Largo	PK	KN	PN	NA	F	Ancho Parásito	Ancho Núcleo
μ	15.5607	0.7490	4.6695	5.3598	5.7992	4.3849	1.8305	1.2678
\pm	2.5919	0.8586	0.9721	0.8175	1.4557	1.6406	0.9014	0.4219

\pm = Desviación Estándar.

μ = Media

En el presente cuadro se muestra las medias generales de todas las variables de las observaciones realizadas en el trabajo de investigación, con una media general de 15.5607 μ m.

VI.- DISCUSIÓN

En la literatura se puede apreciar que las medidas descritas por Hoare (1972) reportan un rango de *Trypanosoma vivax* de 18 μ m a 31 μ m incluido el flagelo libre de 3-6 μ m de longitud, con medias de 21 μ m a 25,4 μ m, habiendo más del 90% de las medidas entre 20 μ m y 26 μ m, estas medidas en nuestro caso no corresponde a las medidas encontradas en nuestro trabajo ya que la gran mayoría de los *T.vivax* observados tienen un rango entre 10 μ m a 22 μ m una media mínima entre 13,71 μ m y una máxima de 17,36 μ m incluido el flagelo.

Morfológicamente existe variedad relativa entre parásitos de las diferentes regiones de Santa Cruz, siendo los más pequeños los de San Matías y con flagelos en su mayoría con mínimos de $1\mu\text{m}$ de longitud.

Comparando las medidas morfométricas realizadas por Dávila (1998), con medias entre $15,86\mu\text{m}$ y $23\mu\text{m}$ de longitud no hay diferencias con las medias realizadas, excepto con los de San Matías, con una media de $13,71\mu\text{m}$, pero con las medias de los otros lugares de observación en este trabajo no hay diferencias, ya que concuerdan con las medias realizadas por Dávila en 1998. Por tanto los datos obtenidos en el trabajo correspondiente nos lleva a confirmar que los *T.vivax* más pequeños del continente son los de San Matías, y que la media de los *T.vivax* en la región es representativa de las medidas de la población de *T.vivax* circulantes en Santa Cruz exceptuando como se menciona los de San Matías.

Comentario [D3]:

Existe relación de tamaño entre *Trypanosoma vivax* boliviano y brasileño con todos los lugares en que se hizo las observaciones, pero las medidas morfométricas de San Matías escapan a las medidas proporcionadas en anteriores trabajos incluso a lo observado en el mismo trabajo.

La diferencia encontrada en San Matías haría pensar de que se trata de una cepa diferente de *Trypanosoma vivax* a los parásitos circulantes en las demás regiones estudiadas.

Estudios moleculares de caracterización y filogenia de los aislados de las distintas regiones serían necesarios para poder confirmar la presencia de cepas diferentes de *Trypanosoma vivax* circulando en el departamento.

Si bien hay nuevos métodos de diagnósticos como PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) los métodos parasitológicos siguen siendo los mas usados y los que se adecuan a las condiciones de campo por lo que los datos sobre morfometría que proporciona este trabajo servirán como parámetro para los profesionales veterinarios los cuales consideraban como parámetros las medidas convencionales de parasitología de Hoare, Soulsby y otros que no son las medidas de los parásitos de Santa Cruz y puede llevar a diagnósticos incorrectos .

VII.- CONCLUSIONES

La determinación de las medidas morfométricas se la hizo en base a la medición de láminas positivas en la cual se demostró que las medidas están dentro de un rango establecido para Sudamérica.

Los *Trypanosoma vivax* observados de San Matías es el grupo que escapa a la regla de las medidas establecidas, pues existe diferencia morfométrica con relación a los *Trypanosoma vivax* de otros lugares tanto de Bolivia como del continente.

Las medias vistas en el presente trabajo confirman la existencia de *Trypanosoma vivax* de menor tamaño en las poblaciones fronterizas de Bolivia y Brasil, por esta razón existe la necesidad de estudios moleculares de caracterización y filogenia de los *Trypanosoma vivax*

exclusivamente de la región y así poder determinar si es posible una clasificación taxonómica específica de los *Trypanosoma vivax* de la región.

Las medidas proporcionadas en la bibliografía, anterior a los reportes de Dávila (1998) para esta región no corresponden debido a las diferencias morfológicas encontradas en los trabajos de Dávila y en el trabajo correspondiente de morfometría..

XI.- BIBLIOGRAFÍA

- AGUILAR, M.S.R. 1996. *Trypanosoma evansi* y *Trypanosoma vivax*: Biología, Epizootiología y Métodos Diagnósticos. Corumbá Brasil, 1-80 pp.
- AGUILAR, S.L.A. 1998. Prevalencia de la tripanosomiasis en el ganado bovino de la provincia Velasco, Departamento de Santa Cruz. Tesis de grado de la U.A.G.R.M. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 4 - 78 pp.
- CUELLAR, A.M. Y CARRIQUE, J.J. 1998. Informe sobre investigación epidemiológica de tripanosomiasis en el área de San Matías, y Pantanal Boliviano (provincias Velasco y Angel Sandoval). LIDIVET, Bolivia.

DÁVILA, A.M.R., RAMIREZ, L. Y SILVA, R.A.M.S. 1997. Morphological and Biometrical Differences among *Trypanosoma vivax* Isolates from Brazil and Bolivia. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 92 (3).
www.scielo.com.br.

DÁVILA, A.M.R., Y RAMIREZ, L . Y SILVA, R.A.M.S. 1998. *Trypanosoma vivax* in the Américas: morphometry and host range. Revue Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux. 51 (1): 29 - 35.

DESQUESNES, M. 1997. Evaluation of a simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosomas vivax* infection in the of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen - enzyme - linked inmuno sorbent assay. Acta Tropica 65: 139 - 148.

DIRIE, M.F., OTTE, M.J., THALTHI, R. Y GARDINER, P.R. 1993. Comparative studies of *Trypanosoma* (*Duttonella*) *vivax* isolated from Colombia. Parasitology. 106: 21 - 29.

EISLER, M.C. LESSARD.,MASAKE, R.A., MOLOO, S.K. YPEREGRINE, A.S. 1998. Sensitivity and specificity of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma vivax* infection in cattle. *Veterinary Parasitology* 79: 187 - 201.

FAIRBAIRN, H. 1953. Studies on *Trypanosoma vivax*. IX.

Morphological differences in strain and their relation to pathogenicity. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 47: 394 - 405.

FONTES, B.F. 2002. Evaluación del método de Reacción en Cadena de la Polimeraza (PCR) para el diagnóstico de la Trypanosomiasis bovina. Tesis de grado de la U.A.G.R.M. Facultad de Medicina Veterinaria. pp. 2 - 70.

GONZALES, J.L. 2002. Evaluation of a Polymerase Chain Reaction assay for the diagnosis of bovine trypanosomiasis and epidemiological surveillance in Bolivia. Tesis para optar al grado de Maestro en ciencias. Centre for Tropical Veterinary Medicine. University of Edinburgh, Reino Unido.

HALL, M., CHAINEY, J., BETELLA, P. Y ARAMAYO, J.L. 1993. *Tabanidae* of Santa Cruz Bolivia, and their role as pests 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. Centre

for Tropical veterinary Medicine, University of

Edinburgh Project completion summary on the Animal Health Research Programme, Project R7356.

HOARE, C.A. 1972. The Trypanosoma of Mammals. A Zoological Monograph. Blackwell Scientific Publication. Oxford.

HUTYRA - MAREK - MANNINGER - MOCSY, 1973 . Patología Terapéutica especiales de los animales domésticos. Traducido de la 11° edición del Alemán por Clemente Sánchez. 3ª ed Labor, Barcelona, España, pp. 361 - 393.

LEVINE, N.D. 1983. Tratado de Parasitología Veterinaria. Traducido de Ingles por Tarazona, V.J. Ed . Acribia.

Zaragoza, España, pp. 14 - 17.

MERCK, C. Y COL. 1998. El Manual Merck de Veterinaria. 4ª Ed Océano. Barcelona - España. pp. 92 - 96.

MELLENDEZ, R.D., FORLANO, M. FIGUEROA, W. 1995. Perinatal infection with Trypanosoma vivax in calf in Venezuela. Trypnews, 2,4.

SEIDL, A., DAVILA, A.M.R. Y SILVA, R.A.M.S. 1999. Estimated Financial Impact of Trypanosoma vivax on the Brazilian

Pantanal and Bolivian Lowlands. Memorias Institute

Oswaldo Cruz, 94 (2): 269 - 272. www.scielo.com.br

SILVA, R.A.M.S. EGUES, A., MORALES, G., EULERT, E.,
MONTENEGRO, A., IBAÑEZ, R., SEIDL, A., DAVILA, A.M.R. Y
RAMIREZ, L. 1998. Bovine Trypanosomiasis in
Bolivian
and Brazilian Lowlands. Memorias do Instituto
Oswaldo
Cruz 93 (1): 29 - 32. www.scielo.com.br

SHAW, J.J. Y LAINSON, R. 1972. *Trypanosoma vivax* in Brazil.
Annals of Tropical Medicine and Parasitology 66(1): 29-
31.

SILVA, R.A.M.S. Y DAVILA, A.M.R. 2001. Bovine Trypanosomosis
due to *Trypanosoma vivax* in the Germán Bush province,
Bolivia. Memorias do Institute Oswaldo Cruz 25 (1-2).
www.scielo.com.br

SOULSBY, E.J.L. 1987. Parasitología y Enfermedades
Parasitarias de los Animales Domésticos. 7ª
Ed. Interamericana. México - México, pp. 481 - 485.

WELLS, E.A., BETANCOURT, A. Y RAMIREZ, L.E. 1982. *Trypanosoma
vivax* en Colombia - Epidemiología y repercusión

económica. Revista Mundial de Zootecnia. F.A.O. Julio-Septiembre, 17 - 23.