

UNIVERSIDAD AUTONOMA “GABRIEL RENE MORENO”

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**TRIPANOSOMIASIS BOVINA EN LA PROVINCIA YACUMA DEL
DEPARTAMENTO DE BENI**

Tesis de Grado presentada para obtener
el Título de:

Médico Veterinario Zootecnista

Por:

Nector Galvis Cossío

Asesores:

Dr. Hugo Ribera C.

Dr. José Luis Gonzáles

**SANTA CRUZ DE LA SIERRA – BOLIVIA
2.003**

TRIPANOSOMIASIS BOVINA EN LA PROVINCIA DE YACUMA DEL DEPARTAMENTO DEL BENI.¹

Galvis, C. N.²; Rivera, H. C.³; Gonzáles, J. L.⁴;

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

I. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de tripanosomiasis en bovinos de la provincia Yacuma del departamento del Beni. El muestreo se realizó en los meses de octubre y noviembre de 2002. Se tomaron 250 muestras al azar, teniendo en cuenta la edad, raza y sexo. Dichas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario Santa Cruz (LIDIVET), mediante los métodos parasitológicos de frotis sanguíneos, el método de centrifugación de microhematocrito y el método serológico de Elisa (indirecta), para *T. vivax*. Los resultados obtenidos fueron: mediante frotis sanguíneos no se identificaron animales positivos a *T. vivax* ni a *T. evansi*, por lo tanto la prevalencia a este método es de 0% para ambos parásitos, en el método de centrifugación de microhematocrito no se obtuvo ningún caso positivo a *T. vivax* y *T. evansi*, también siendo su prevalencia de 0% para ambos parásitos. Mediante la técnica de Elisa *T. vivax* obtuvo 177 casos de serorreacciones positivas de un total de 250 muestras, con una prevalencia del (70.8%). También se pudo observar que de acuerdo al sexo no existe diferencia significativa ($p > 0,05$) y por el contrario se observó que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en los animales mayores de 49 meses con los animales menores a 48 meses, de acuerdo a la raza no existe diferencia significativa ($p > 0,05$) entre mestizos y raza criolla, pero solamente mediante la prueba de Elisa indirecta. Sabiendo que los métodos parasitológicos de frotis sanguíneo, método de centrifugación de microhematocrito son de baja sensibilidad y especificidad, y considerando la prevalencia obtenida por Elisa, se dice que la tripanosomiasis está presente en el área de estudio.

¹Tesis de grado presentada por Galvis, C. N., para obtener el título de Médico Veterinario y Zootecnista.

²Barrio Tierras Nuevas UV 189 A MZA: 008 Telf. 71051033, Santa Cruz – Bolivia.

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

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

II. INTRODUCCION

La producción de ganado bovino en nuestro país es uno de los rubros pecuarios de gran importancia en la economía nacional y local, no sólo porque proporciona alimentos de alto valor nutritivo para la población humana y generar fuentes directas e indirectas de empleos, sino también porque tiene importante participación en el PIB.

Entre los factores que limitan dicha producción tenemos los de orden nutricional, genético, manejo sanitario y las enfermedades; centrando nuestro interés en estas últimas, las enfermedades parasitarias ocupan un importante lugar, en ese sentido es de gran importancia la salud de los animales, la cual debe ser una preocupación constante del estado y en especial del sector ganadero, a través de sus instituciones públicas que deben destinar recursos humanos y materiales a fin de realizar estudios de las enfermedades que afectan a la ganadería.

La Tripanosomiasis es una enfermedad parasitaria hemática producida por protozoos miembros del género *Tripanosoma*, que afecta a los animales domésticos, silvestres y el hombre. Se tiene reportes de casos clínicos causados por *T. vivax* desde 1919 en animales procedentes de Africa en la Guayana Francesa (Leyer y Vienne, 1919). Desde entonces la enfermedad se expandió hacia el sur del continente logrando cruzar el Amazonas y llegar en 1925 a infectar bovinos del área del pantanal brasileiro y en 1996 los llanos orientales de Bolivia (Aguilar Machado, 1996).

La Tripanosomiasis bovina en sudamérica es causada principalmente por *T. vivax* y por otros tipos de Tripanosomiasis, el bovino padece en forma leve o actúa como portador pasivo, ejemplo el *T. evansi*. La Tripanosomiasis en Bolivia es de potencial riesgo para más de 5 millones de bovinos y para más de 719.794 en la provincia Yacuma del departamento del Beni. En ambos casos se transmiten mecánicamente considerándose

como vectores transmisores a moscas picadoras, principalmente tábanos (Wells y col., 1992; Jones y Dávila, 2001; Hall y col., 1993, 2001).

En nuestro país la presencia de ambos parásitos fue reportada y confirmada, en los departamentos de Santa Cruz y el Beni. Se confirmaron brotes de tripanosomiasis bovina en la provincia Yacuma del departamento del Beni (Silva y col., 1998; Cuellar y Carrique, 1998; Gonzáles, comunicación personal). Estudios que cuantifiquen la presencia de estos parásitos solo fueron realizados en la provincia Velasco (Aguilar, 1998) y Guarayos (Braga, 2002) reportándose prevalencia de 1.33% en el primero y de 4.8% respectivamente, datos que demuestran un posible aumento en el nivel de infección en la región de Santa Cruz.

Estudios realizados en el departamento de Santa Cruz, demuestran que la época lluviosa representa el periodo de mayor riesgo para la transmisión de tripanosomiasis debido a la abundancia de tábanos, que son los vectores mecánicos de la enfermedad (Hall y col. 1993 y 2001). Diagnósticos realizados por LIDIVET en los años 1996, 1997 y 1998, demuestran que el problema fue bastante grave, sobre todo en el área de transito de ganado de animales que venían del pantanal brasileiro (Libro de registro LIDIVET).

Debido a que la presencia de estos parásitos es de mucha importancia los resultados obtenidos mediante pruebas serológicas y parasitológicas servirán como base para dar pautas de un control eficaz. Los objetivos del presente trabajo son: a) Determinar la presencia de tripanosomiasis en bovinos de la provincia Yacuma del departamento del Beni, b) Determinar la presencia de tripanosomas en sangre de bovinos, c) Detectar la presencia de anticuerpos de *T. vivax* mediante pruebas serológicas, d) Dar a conocer el grado de infección de la tripanosomiasis tomando en cuenta la edad raza y sexo.

IV. MATERIAL Y METODOS

4.1. MATERIALES

4.1.1. Localización del área

Este trabajo de investigación se realizó en la provincia Yacuma del departamento del Beni, Bolivia. Dicha área geográficamente está situada entre los 17°47' de latitud Sur y los meridianos 63°09' de longitud Oeste y tiene una altitud de 155 metros sobre el nivel del mar. Con un clima cálido tropical húmedo, cuya temperatura media anual es de 27.9°C, una humedad relativa del 90% y una precipitación pluvial de 2.200 a 2.800 mm. Posee una superficie territorial de 20.897 kilómetros cuadrados y una población ganadera de 719.794 cabezas.

La Provincia Yacuma fue fundada el 26 de julio de 1707 por el misionero jesuita Fray Baltasar Espinoza, esta importante ciudad se encuentra al centro del departamento del Beni y se divide en dos secciones territoriales:

- La primera tiene por capital a Santa Ana de Yacuma, que al mismo tiempo es capital de la Provincia.
- La segunda sección es Exaltación.

Tiene los siguientes límites:

Al norte con la provincia Vaca Diez.

Al sur con la provincia Moxos

Al este con la provincia Mamoré y Moxos.

Al oeste con la provincia Ballivián.

4.1.2. Material del Muestreo

- Tubos Vacutainer

- Aguja Vacutainer
- Portaobjetos
- Papel filtro
- Microcentrífuga
- Tubos capilares
- Microscopio
- Adaptador
- Plastilina
- Homogenizador

4.1.3. Material para Elisa

Se aplicó el kit de Elisa indirecta para la detección de anticuerpos contra *T. vivax* en suero de bovinos (Elisa – TvAgd) proveído por la Agencia Internacional de Energía Atómica (AIEA), programa conjunto de Producción y salud animal FAO/AIEA.

- Fotómetro conectado a una computadora para lectura.
- Incubadora con agitador magnético.
- Pipetas de 0,5 - 10 - 20 - 200 - 1000 *microlitros*.
- 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 (ácido Ortofosfórico).

4.1.4. Toma de Muestras

Se visitaron diferentes estancias ganaderas de la provincia Yacuma del departamento de Beni donde se tomaron 250 muestras de bovinos escogidas al azar, de los vasos sanguíneos coccígeos sin anticoagulante para obtener el suero para el diagnóstico serológico y sangre con anticoagulante para realizar el método de centrifugación de microhematocrito (MCMHT), además de sangre de la oreja para realizar el frotis en portaobjeto.

Todas las muestras fueron tomadas siempre mediante una previa identificación del animal, tomando como dato la numeración del animal y llevando registro de los animales muestreados según la edad, raza y sexo, con el fin de poder realizar evaluaciones entre variables y poder identificarlos como posibles factores de riesgo. El tamaño de la muestra fue tomado basándose en una prevalencia estimada por métodos parasitológicos de 4.82% en el municipio de Ascensión de Guarayos, (Braga, 2002) y una prevalencia mínima obtenida por los mismos métodos de 1.33% en la provincia Velasco (Aguilar, 1998). El tamaño de la muestra mínima obtenida utilizando el programa Epi – info 6 fue de 150 animales, pero se tomaron 250 muestras debido a la disponibilidad del kit para ese número de muestras.

4.2. METODOS

4.2.1. Métodos de Laboratorio

4.2.1.1. Método de Diagnóstico Parasitológico

Los métodos empleados fueron: método de Centrifugación de Microhematocrito en el campo, para la observación de movimientos de *Trypanosoma* a nivel de costra flogística y

observación microscópica del parásito mediante frotis sanguíneos previa coloración con Giemsa, y para la identificación del parásito se consideró la morfología del mismo para diferenciar sobre todo entre *T. vivax* y *T. evansi*.

4.2.1.2 Método de Diagnóstico Serológico

El método de diagnóstico serológico empleado fue Elisa Indirecta con antígeno desnaturalizado de *T. vivax*, aplicando un punto de corte de 30% (Jones y col., 2000). Para la realización de esta prueba se siguieron las recomendaciones y protocolo de la AIEA (Agencia Internacional de Energía Atómica) para Elisa.

4.2.3 Métodos Estadísticos.

Los análisis de datos se realizaron basados en los resultados obtenidos mediante los métodos parasitológicos y serológicos. El cálculo de las prevalencias y la comparación de proporciones se llevó a cabo mediante Chi cuadrado y prueba exacta de Fisher, utilizando el programa de computación Epi Info 6. Para la comparación de las medias obtenidas en las lecturas de hematocrito de poblaciones positivas versus negativas.

V. RESULTADOS

En el presente trabajo de investigación empleando las técnicas de frotis sanguíneo de un total de 250 muestras, no se observó ningún animal positivo (0%) a *T. vivax* ni a *T. evansi* (0%), al igual que con la técnica de centrifugación de microhematocrito (CMHT) no se encontró ningún animal positivo a Tripanosomiasis (0%) además, con el método serológico de Elisa indirecta empleando antígeno *T. vivax* se observaron de 250 muestras tomadas, 177 animales positivos y 73 animales negativos (Cuadro N°1 y Gráfico N°1).

De acuerdo al (Cuadro N°2) se puede observar la siguiente prevalencia en las siguientes pruebas: FROTIS *T. vivax* se determinó una prevalencia de 0.00% (IC de 0.00 – 1.46), para MCMHT una prevalencia de 0.00% (IC de 0.00 – 1.46), mediante la prueba de ELISA *T. v.* una prevalencia de 70.8% (IC de 64,74 - 76,35).

Buscando identificar factores de riesgo para la tripanosomiasis, se analizaron los factores de raza, sexo y edad donde se observó que entre los individuos menores a 24 meses y los mayores de 25 a 48 meses no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$). Entre los individuos menores a 48 meses y los mayores de 49 a 72 meses hay una diferencia significativa al igual que con los mayores de 72 meses ($p < 0.05$), finalmente entre los individuos de 49 a 72 meses y los mayores de 73 meses no se encuentra diferencia significativa ($p > 0.05$).

Tomando en cuenta la raza se observó 72.8% de animales positivos mestizos, y el 62.5% de positivos de la raza criolla, no encontrándose diferencia significativa en raza, ($p > 0.05$) (Gráfico N°3). Referente al sexo se observó un 71.6% de positivas en hembras y 42.8% positivos en machos, pero no se encontró diferencia significativa por sexo ($p > 0.05$) (Gráfico N° 4). Se compararon los niveles de hematocrito entre poblaciones de animales seropositivos y seronegativos a la prueba Elisa, donde no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$), es decir que los animales positivos no muestran ningún grado de anemia. No se hizo la evaluación de concordancia entre estas pruebas porque no se encontró animales positivos en frotis ni en MCMHT.

CUADRO N°1

ANIMALES POSITIVOS Y NEGATIVOS A TRIPANOSOMIASIS BOVINA EN LAS DIFERENTES PRUEBAS

PRUEBAS	POSITIVOS N°	%	NEGATIVOS N°	%	TOTAL
Frotis T. v. (1)	0	0	250	100	250
Frotis T. e. (2)	0	0	250	100	250
MCMHT (3)	0	0	250	100	250
ELISA T.v. (4)	177	70.8	73	29.2	250

(1) Tripanosoma vivax

(2) Tripanosoma evansi

(3) Método de centrifugación de microhematocrito

(4) Elisa Tripanosoma vivax

CUADRO N°2

PREVALENCIA DE LA TRIPANOSOMIASIS OBTENIDA POR EL METODO ELISA

PRUEBA	PREVALENCIA %	I.C. 95%
FROTIS	0,00	0,00 – 1,46
MCHT	0.00	0,00 – 1,46
*ELISA T.v.	70,8	64,74 – 76,35

*Elisa Tripanosoma vivax en 250 muestras.

CUADRO N°3

ANIMALES POSITIVOS A TRIPANOSOMIASIS MEDIANTE ELISA, POR EDAD

EDAD EN MESES	PRUEBA		TOTAL DE MUESTRAS
	POSITIVOS	NEGATIVOS	
≤ 24	7	13	20
25-48	20	19	39
49 - 72	58	16	74
≥ 73	92	25	117
TOTAL	177	73	250

Entre los animales menores de los 24 meses y los mayores de 25 a los 48 meses no existe diferencia significativa ($P>0,05$).

Entre los animales menores de los 48 meses y los mayores de 49 a 72 meses se encontró una diferencia significativa al igual que con los mayores de 72 meses ($P< 0,05$).

Finalmente entre los individuos de 49 a 72 meses y los mayores de 73 meses no se encuentra diferencia significativa ($P>0,05$).

CUADRO N° 4

ANIMALES POSITIVOS A TRIPANOSOMIASIS POR RAZA.

RAZA	PRUEBAS		TOTAL MUESTRAS
	POSITIVOS	NEGATIVOS	
MESTIZA	147	55	202
CRIOLLA	30	18	48
TOTAL	177	73	250

(P>0,05).

CUADRO N°5

**ANIMALES POSITIVOS A TRIPANOSOMIASIS MEDIANTE ELISA
POR SEXO.**

SEXO	PRUEBAS		TOTAL DE MUESTRAS
	POSITIVOS	NEGATIVOS	
Hembras	174	69	243
Machos	3	4	7
TOTAL	177	73	250

(P>0,05).

CUADRO N°6

MEDIA DE HEMATOCRITO ENTRE POSITIVOS Y NEGATIVOS A ELISA

EVALUACION	PROMEDIO DE MCMHT	DS	TOTAL DE MUESTRAS
Negativos a Elisa T. v.	37.08	± 5.32	73
Positivos a Elisa T. v.	37.14	± 5.23	177
TOTAL			250

(P > 0.05)

VI. DISCUSION Y CONCLUSIONES

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, empleando un punto de corte de 30% para la categorización de positivos y negativos de los resultados, según Jones, T. W. y col., este punto de corte es adecuado para el diagnóstico en Bolivia y los antígenos desnaturalizados empleados en Elisa tienen pocos problemas de reacción cruzada en comparación con los antígenos comunes (Jones, T.W. y col., 2000).

Se procesaron 250 muestras mediante ELISA y todas las muestras fueron válidas puesto que las placas donde fueron procesadas cumplían con los requisitos de calidad (CCI) exigidos por el kit. En este trabajo no se logró observar el *T. vivax* ni el *T. evansi* mediante frotis sanguíneo, pero mediante el método Elisa se pudo detectar una prevalencia de 70.8% de tripanosomiasis, lo que demuestra la mayor sensibilidad de este método. Por los problemas de reacción cruzada y la baja especificidad de especie, no podemos tener la certeza si los anticuerpos encontrados son específicamente de *T. vivax*, o bien la prueba detectó también anticuerpos contra *T. evansi*.

El diagnóstico serológico de *T. vivax* en sudamérica es complicado por la necesidad de diferenciar entre la infección con otros dos tripanosomas que afectan a 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).

Se observó que tanto la raza como el sexo en los bovinos no tienen ningún efecto en el nivel de infección de los animales. Por el contrario la edad de los animales demostró una diferencia significativa, en la adquisición de la tripanosomiasis. Esto puede deberse a que el sistema inmunitario va reduciendo su función en animales viejos, lo que predispone a una mayor difusión del parásito en la sangre, también ellos van perdiendo los estímulos nerviosos en la piel y soportan más las picaduras de los tábanos.

Otros problemas que se presentan en los test que detectan anticuerpos es la persistencia de los anticuerpos 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. Reportes de persistencia de anticuerpos en bovinos después de tres meses han sido reportados por (Luckins, 1977) y entre cuatro y seis meses por (Hopkins y col., 1998), por lo tanto los resultados obtenidos por serología que detectan anticuerpos no pueden ser indicativos de una infección activa del parásito, pero son considerados como buenos indicadores de un probable nivel de infección en la ganadería del área de estudio.

Podemos afirmar que el método de frotis sanguíneo empleado, es de baja sensibilidad (Desquesnes, 1997) para predecir con certeza la presencia de Tripanosomiasis bovina, debido a que un animal puede salir positivo como negativo dependiendo las fluctuaciones de la parasitemia en el hospedador, por lo que no se debe descartar la posibilidad de que la prueba clasifique como falsos negativos a animales que pueden ser positivos a tripanosomiasis.

Este estudio nos confirmó la presencia de tripanosomiasis ya que se detectó anticuerpos (70.8%). La situación es clara y nos llama a un desafío posterior de seguir investigando más sobre esta enfermedad, ya que existe la triada ecológica en la zona tales como: agente etiológico (*T. vivax*), modo de transmisión (*Tábano*-picadura) y huésped susceptible (bovino).

Los niveles de hematocrito en animales seropositivos y seronegativos se encontraron en el rango de la normalidad para ambos, por ende no se encontró diferencia significativa, es decir que los animales positivos a Elisa no presentan ningún grado de anemia. Esto puede deberse a que la enfermedad no es activa en los animales o que los animales hayan sido tratados. En síntesis la enfermedad es endémica esta provincia, de ahí la necesidad de implementar sistemas de control que contribuyan principalmente a evitar la diseminación de estos parásitos a zonas que todavía no están afectadas y que cuentan con las condiciones para el establecimiento en forma endémica de estos parásitos.

VII.- BIBLIOGRAFIA

- 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. Santa Cruz, Bolivia. pp. 4-78.
- AGUILAR, M. S. S. R. 1996. Trypanosomose bovina por Trypanosoma vivax na Bolivia; Propostas para o Controle e estudos Epizootiológicos. EMBRAPA informe técnico. Corumbá, Brasil. pp. 1- 24.
- AGUILAR, M. S. S. R. 1996. Trypanosoma Evansi y Trypanosoma vivax. Biología, Epizootiología y Métodos de Diagnósticos. Corumbá, Brasil. pp. 1-80.
- BETANCOURT, A. 1978. "Studies on the epidemiology and economic importante of Trypanosoma vivax Ziemann (1905) a Colombia" Ph D. Thesis. Texas. A & M University, College Startion, Texas, EE.UU. pp. 6-15.
- BOYT, A. 1994. Field Guide for Diagnosis, Treatment adn Prevention of African Animal Trypanosomiasis. Food and Agriculture organization of the United Nations, pp. 89-105.
- BRAGA, F. 2002. Evaluación del método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el diagnóstico de la tripanosomiasis bovina en el municipio de ascensión de Guarayos departamento de Santa Cruz. Tesis de grado de la U.A.G.R.M. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Santa Cruz, Bolivia. pp. 1-60.
- CUELLAR, A. M. y CARRIQUE, J. J. 1998. Informe sobre investigación epidemiological de trypanosomiasis en el área de San Matías y Pantanal Boliviano (provincias Velasco y Ángel Sandóval). LIDIVET. Santa Cruz, Bolivia. pp. 1-5.

- CLARKSON, M. I. 1976. Trypanosomiasis of domesticated animals of South America. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., London, England. pp. 125-126.
- DAVILA, A. M. R., RAMIREZ, L. y SILVA, R. A. M. S. 1998. Trypanosoma vivax in the Americas: morphometry y host range. Revue d Elevage et de Medicine Veterinaire des Pays tropicaux. Regina, Canadá. pp. 29-35
- DESQUENSES, M. 1997. Evaluation of a simple PCR technique for dianosis of Trypanosoma vivax infection in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques y antigen-enzyme-linked inmuno sorbent assay. Acta Tropicale. Guadalajara, México. pp. 139-148.
- DIRIE, M. F., WALLBANKS, K.R., ADEN, A. A., BORNSTEIN, S. Y IBRAHIM, M. D. 1989. Camel trypanosoma y its vector in Somalia. Veterinary Parasitology. pp. 285-291.
- EISLER, M. C. LESSARD, P., MASAKE, R. A., MOLOO, S.K., PEREGRINE, A. S. 1998. Sensitivity y specificity of trypanosoma congolense y trypanosoma vivax infection in cattle. Veterinary Parasitology. Manitoba, Canadá. pp. 394-405.
- FINELLE, P. 1974. African animal trypanosomiasis; Part IV. Economic Problemes. Wild. Anim. Rev. pp.15-18.
- FRANKE, R.C., MATTHIAS, G. Y DIETER, M. 1994. Investigation on naturally occurring Trypanosoma evansi infections in horses, cattle, dogs y capybaras (Hydrochaeris hydrichaeis) in Pantanal de pocone (Mato Grosso, Brasil). Acta Tropical. Mato-Grosso, Brasil. pp. 159-169.
- GARDINER, P. R. 1989. Recent studie in the biology of Trypanosoma vivax. Advances in Parasitology. Belem, Brasil. pp. 229-317.

- GARDINER, P. R. Y MAHMOUD, M. M. 1992. Salivarian trypanosoma causing disease in livestock outside Sub – Sahara Africa. In: Parasitic Protozoa (eds. Kreier J.P. y Baker, J.R.) Vol., 2. Academic Press, San Diego, CA, USA. pp. 227-314.
- GONZALES, R. J. L. 2002. Evaluation of a polimerase chain reaction assay for the diagnosis of bovine tripanosomiasis and epidemiological surveillance in Bolivia. Tesis para optar el grado de Maestría en ciencias. Centre for Tropical Veterinary Medicine. University of Edimburgh, Edimburgo, Reino Unido. pp. 1-40.
- HALL, M., CHAINEY, J. BETELLA, P. Y ARAMAYO, J. L. 1993. Tabanidae of Santa Cruz, Bolivia, y their role as pests of livestock. The Natural history museum, UK, final Report on ODA Animal Health Programme, project R 5407. Edimburgh, Reino Unido. pp. 15-21
- 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. Edinburgh, Reino Unido. pp. 1-78.
- HOARE, C. A. 1965. Vampire bat as vectors y hosts of equine y bovine trypanosomes. Acta Tropica. XXII. Monterrey, México. pp. 204-213.
- HOARE, C. A. 1972. The trypanosoma of Mammals. A. Zoological monograph. Blackwell Scientific Publication. Oxford, Estados Unidos. pp. 103-200.
- HOPKINS, J. S., HARRISON, C., NOREEN, M., LUCKINS, A. G., RAE, P. E., VAN DEN BOSSCHE, P., EISLER, MARK, P. 1998. Adaptation y validation of antibody – ELISA using dried blood spots on filter paper for epidemiological surveys of tsetse transmitted trypanosomiasis in cattle. Preventive Veterinary Medicine. Angola, África. pp. 91-99.

- HUTYRA-MAREK-MANNINGER-MOCSY. 1973. Patología y Terapéutica Especiales de los Animales Domésticos. Traducido de la 11 Ed. del Alemán por Clemente Sánchez. Labor, Barcelona-España. pp. 361-393.
- JONES, W.T. y DAVILA, A. M. R. 2001. *Tripanosoma vivax* – out of Africa. Trends in Parasitology. Lagos, Nigeria. 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 tripanosomiasis in Bolivia. Animal Trypanosomiasis Diagnosis and Epidemiology. International Atomic Energy Agency. pp. 59-62.
- KUBES, V. 1944. El *Trypanosoma vivax* Americano, agente de la Tripanosomiasis Bovina en Venezuela, su comparación con el de África. Grafolit. Caracas, Venezuela. pp. 30-32.
- LEGER Y VIENNE, 1919. 1919. Epizootic a trypanosomes chez les bovines de la Guyane française. Bull. Soc. Pathol. Exot. Cayena, Guyana Francesa. pp. 258-266.
- LEVINE, N. D. 1973. Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man. 2nd Ed. Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota, EE.UU. pp. 48-49.
- LUN, Z. R. Y DESSER, S. S. 1995. Is the broad range of host y geographical of *Trypanosoma evansi* attributable to the loss of maxicircles kinetoplast DNA. Parasitology Today. pp. 131-133.
- 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. Kansas, Estados Unidos. pp 53 – 62.

- MASAKE, R. A., NJUGUNA, J. T., BROWN, C. C. y MAJIWA, P. A. 2002. The Application of PCR-ELISA to the detection of *Trypanosoma Brucei* and *Trypanosoma vivax* infections in livestock. *Vetrinary Parasitology*. Manitoba, Canadá. pp. 179-189.
- MASIGA, D. K., AUDRA, J. S., HAYES, P. BROMIDGE, T. J. y WENDY, C. 1992. Sensitive detection of Trypanosomes in tsetseflies by DNA amplification. *International journal of Parasitology*. pp. 909-918.
- MATEUS, G. Y GONZALES, M. 1991. Características de un brote de *Trypanosoma vivax* en Colombia. *Revista cubana de Ciencias Veterinarias*. Habana, Cuba. pp. 2-6.
- MELLENDEZ, R. D. FORLANO, M., AND FIGUEROA, W. 1995. Perinatal infection with *Trypanosoma vivax* in a calf in Venezuela. *Trypnews*, pp. 4.
- MERCK & Co. 2000. Un Manual de Diagnóstico, Tratamiento, Prevención y Control de las Enfermedades para el veterinario 4ª ed. Océano Centrum. Barcelona España. pp. 391 – 393.
- MONZON, C. M., MANCEBO, O. A. Y D'AGOSTINO, B.I. 1984. Consideraciones clínicas de la Tripanosomiasis equina experimental (*Trypanosoma evansi*) *Revista de Medicina Veterinaria*. Córdoba, Argentina. pp. 13-18.
- MORLAIS, I., RAVEL, S., GREBAUT, P., DUMAS, V. Y CUNY, G. 2001. New molecular marker for *Trypanosoma (Dutonella) vivax* identification. *Acta Tropical*. pp. 207-213.
- MYLER, P. J. 1993. Molecular variation in trypanosomes. *Acta Tropical*. pp. 205-225.
- NANTULYA, V. M. 1990. Tripanosomiasis in domestic animals: The problems of Diagnosis. *Revue Scientifique Technique*. Office International des Epizooties. Maracaibo, Venezuela. pp. 357-367.

- NORMAM, D. L. 1983. Tratado de Parasitología Veterinaria. Traducido por Tarrazona, J. M. Acribia. Zaragoza, España. pp. 14-17.
- NUÑES, V. L. B., OSHIRO, E. T., DORVAL, M. E. C., GARCIA, L. A. M., DA SILVA, A. A. P. y BOGLIOLO, A. R. 1993. Investigacao epidemiological sobre Trypanosoma evansi no Pantano Sul Mato Grossense-estudo de reservatorios. Revista Brasileira de Parasitología Veterinaria. Minas Gerais, Brasil. pp. 41-44.
- PEREGRINE, A. S. 1994. Chermotherapy and delivery systems: haemoparasite. Vet. Parasitology. Maracaibo, Venezuela. pp. 223-248.
- PEREZ, C. – IÑIGO, J. 1976. Parasitología en Protozoos Parásitos. Blumes. Madrid, España. pp. 63-85.
- QUIROZ, R. H. 1989. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los animales Domésticos. Cap 5. Enfermedades Causadas por Flagelados. Cap. 26. Artrópodos. 3ra Edición. Limusa. México D-F, México. pp. 70-706.
- RHONE MERIEUX. 1995. Trypamidium, un avance de la quimioprofilaxis. Rhone Merieux. Colombia, S. A. Santa Fe de Bogotá. pp. 1-12.
- SHAW, J.J. 1977. The Epizootiology of American Surra With special referente to the lower Amazon Region. Protozoology. Paraná, Brasil. pp. 119-128.
- SHAW, J. J. y LAINSON, R. 1972. Tripanosoma vivax in Brazil. Annals of Tropical Medicine y Parasitology. Paraná, Brasil. pp. 25-32.
- SILVA y COL. 1995. Bovine Trypanosomosis due to Tripanossoma vivax in the Northern subregion of Pantanal, Brazil. Trypnews. Aconcagua, Chile. pp. 1-3.

SILVA y COL. 1996. Epizootic of *Trypanosoma vivax* in Bolivian Lowlands and pantanal region Brazil. Proceedings of the firts internet conference on Salivarian Trupanosomes. FAO. pp. 1-6.

SILVA y COL. 1998. Bovine Tripanosomiasis in Bolivian and Brazilian Lowlands. Memorias Instituto Oswaldo Cruz. Goias, Brasil. pp. 29-32.

SOULSBY, E. J. L. 1987. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. Cap 3. Protozoos. 7 ed. Interamericana. México D.F., México. pp. 521-551

TIZARD, I. 1995. Inmunología Veterinaria. 4 ed. Interamericana McGraw-Hill. México D. F., México. pp. 89-94.

WELLS, E.A., BETANCOURT, A. Y RAMIREZ, L.E. 1977. Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the New Wordl. Transactions of the Royal society of Tropical medicine y Hygiene. pp. 448-449.