

EFECTO DE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *Trypanosoma vivax* SOBRE PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN OVINOS

Effect of Experimental *Trypanosoma vivax* Infection on Hematological Parameters in Sheep

Zulayne Valera, Omaira Parra, Manuel Alvarado, Glen Barboza, Freddy Escalona y Roger Ramírez

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Edo. Zulia, Venezuela. E-mail: zulayne@cantv.net

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue conocer el efecto de la infección experimental de una cepa de *Trypanosoma vivax*, aislada en el estado Zulia, Venezuela, sobre los parámetros hematológicos en ovinos. Se utilizaron ocho ovinos mestizos West-African, con edades comprendidas entre 6 meses y 1 año, los cuales fueron separados en dos grupos. El grupo experimental, conformado por cuatro animales fue inoculado por vía intravenosa con 2 mL de sangre fresca, conteniendo aproximadamente $1,3 \times 10^6$ tripanosomas/mL, tomada de un ovino positivo; el grupo control, estuvo conformado por los cuatro ovinos restantes. Se evaluaron durante 90 días los parámetros: temperatura corporal, parasitemia, hematocrito, hemoglobina, leucocitos y proteínas totales. Todos los animales infectados presentaron tripanosomas en sangre a partir del día 2 post-inoculación, desarrollando una parasitemia de tipo ondulante y un cuadro de anemia severa que persistió hasta el final del ensayo. El curso de la infección experimental con *T. vivax* permitió la identificación de dos fases: La primera fase, observada en las primeras cuatro semanas del período post-infección, en la cual, los ovinos inoculados presentaron altos niveles de parasitemia, fiebre remitente y un descenso significativo ($P < 0,05$) en los valores del hematocrito y hemoglobina con respecto al grupo control. El número total de leucocitos disminuyó principalmente en la primera semana post-infección, y permanecieron por debajo del grupo control durante todo el ensayo. La segunda fase fue evidenciada a partir de la quinta semana post-infección; en este período, los animales inoculados manifestaron niveles de parasitemia menores a los detectados en la fase anterior, fiebre remitente, persistencia de bajos valores del hematocrito y de la hemoglobina, además de un incremento significativo ($P < 0,05$) de las proteínas plasmáticas. Los cambios en los valores hematológicos y temperatura

corporal estuvieron relacionados con la aparición de los tripanosomas en sangre y la intensidad de la parasitemia.

Palabras clave: *Trypanosoma vivax*, ovinos, infección experimental.

ABSTRACT

The purpose of this research was to know the effect of experimental infection with a stock of *Trypanosoma vivax* from Zulia state, Venezuela, on haematological parameters in sheep. Eight cross-breed West-African sheep between 6 months and 1 year old were aleatory divided in two groups. The experimental group (four sheep) was inoculated intravenously with 2 mL of fresh blood contained 1.3×10^6 Tryp/mL from a positive ewe. The remaining four animals served as controls. The effects of the parasite on body temperature, parasitaemia, haematocrit, haemoglobin, leukocytes and total serum proteins were evaluated for 90 days. All the infected animals were positive for the parasite from 2 days post-inoculation, developing undulating parasitaemia and severe anaemia which persisted until the termination of the experiment. The course of experimental infection with *T. vivax* showed two phases: Phase 1, observed between first four weeks the post-infection period, the infected sheep developed high levels of parasitaemia, and decrease ($P < 0.005$) in haematocrit and haemoglobin compared to control group. Total leukocyte counts fell on the first week post-infection and remained much lower than the control group throughout the observation period. The second phase was evident from fifth week post-infection; in this period, the infected animals showed levels of parasitaemia lower than the preceding phase, remittent fever, persistence low values the haematocrit and haemoglobin, as well as, significant increase ($P < 0.05$) of serum proteins. The changes in the haematological parameters and body temperature were related to appear the trypanosomes in the circulation and to the intensity of parasitaemia.

Key words: *Trypanosoma vivax*, sheep, experimental infection.

INTRODUCCIÓN

La tripanosomosis causada por *Trypanosoma vivax* es una enfermedad con características clínicas-patológicas muy variables, debido en parte a factores tales como: virulencia de la cepa, susceptibilidad de las especies hospedadoras, inmunidad del animal infectado, entre otros [22, 37, 38]. Infecciones naturales y experimentales con diferentes cepas de esta especie parasitaria son capaces de producir un amplio rango de respuestas, incluyendo el síndrome agudo, la enfermedad crónica y el portador asintomático [11]. En África, cepas de *T. vivax* presentes en diferentes regiones geográficas difieren en morfología, características de crecimiento, patogenicidad, patrones de isoenzimas, cariotipos y secuencias de ADN; debido a estos hallazgos se han caracterizado aislados de *T. vivax* del este, oeste y África central [37].

Estudios comparativos sobre los cambios hematológicos en la tripanosomosis animal indican que las infecciones por tripanosomas generalmente ocurren en tres fases. El primer episodio de parasitemia induce una crisis aguda caracterizada por una alta parasitemia y una pancitopenia. Esta crisis puede terminar en muerte del animal o puede ir seguida de una segunda fase o crisis crónica, de variable duración, en donde la parasitemia es de menor intensidad pero persistiendo la anemia y la trombocitopenia y en algunos casos, la leucopenia. Muchos animales infectados pueden morir durante esta fase crónica pero aquellos que sobreviven entran progresivamente a una tercera etapa de recuperación [3, 13, 17]. La anemia se describe como la principal característica de la enfermedad con una etiología bastante compleja, reportándose en varias investigaciones, su naturaleza hemolítica basada en la reducción del volumen de glóbulos rojos y de la vida media de estas células y en la ocurrencia de eritrofagocitosis, hemosiderosis, hemodilución y algunas veces, hiperbilirrubinemia [10, 20, 27, 29].

En Venezuela, diversos estudios indican la presencia de tripanosomosis causada por *T. vivax* en los rebaños bovinos, sugiriendo el carácter endémico de la enfermedad [6, 24, 33, 34, 35]. Considerando que el *T. vivax* está ampliamente distribuido en las regiones ganaderas del país y en razón al impacto económico que tiene la tripanosomosis en la producción bovina, se hace necesario la realización de estudios sistemáticos dirigidos a profundizar los conocimientos de esta parasitosis en cuanto a prevalencia, distribución, patogenicidad e identificación de cepas de *T. vivax* presentes en cada región. Por lo antes expuesto, se desarrolló la presente investigación con el propósito de estudiar los cambios hematológicos que ocurren durante la infección experimental de ovinos con una cepa de *T. vivax*, aislada en el estado Zulia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Unidades de estudio

Para el estudio se utilizaron ocho (8) ovinos mestizos de la raza West-African, con edades comprendidas entre 6 meses

y 1 año, negativos a *T. vivax* de acuerdo a técnicas parasitológicas directas, así como por serología, a través de la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). Los animales fueron separados en dos grupos: el grupo control conformado por cuatro (4) ovinos, dos machos y dos hembras y el grupo experimental por cuatro (4) ovinos, dos machos y dos hembras. Ambos grupos se alojaron en corrales separados y cubiertos con malla anti-mosquito dentro de las instalaciones de la Policlínica Veterinaria de la Universidad del Zulia. La alimentación consistió en alimento concentrado en raciones de 1 kg/animal/día, heno y agua *ad libitum*.

Inoculación experimental

Trypanosoma vivax se obtuvo de un bovino macho, mestizo Pardo Suizo, de aproximadamente un año de edad, proveniente del municipio La Cañada de Urdaneta, estado Zulia. Esta cepa fue replicada, mediante inoculación de sangre fresca, en un ovino adulto, mestizo West-African, negativo a *T. vivax* por las técnicas de microcentrifugación y frotis de capa blanca, el cual se utilizó como donador del inóculo. Los animales del grupo experimental fueron infectados con *T. vivax* mediante inoculación intravenosa, de 2 mL de sangre fresca por animal, tomada del ovino donador cuando presentó una parasitemia de $1,3 \times 10^6$ Tryp/mL.

Los animales fueron examinados clínica y hematológicamente durante una semana antes de la inoculación (período pre-infección) y posterior a ésta se hicieron evaluaciones cada tres días, durante un período de noventa días (período post-infección). Los parámetros evaluados fueron: temperatura corporal, parasitemia, volumen del paquete celular (hematocrito), hemoglobina, conteo de leucocitos, proteínas totales y frotis de capa blanca para observación de hemotrópicos. Para el examen hematológico se tomaron 3 mL de sangre por animal, de la vena yugular, utilizando tubos con anticoagulante (EDTA).

Parasitemia

La parasitemia fue determinada mediante la técnica de microcentrifugación [39] y el conteo en cámara de Neubaüer o hemocitómetro según la técnica descrita por Lumsden y col. [19], modificada [32]. A cada muestra de sangre se le realizó la técnica de microcentrifugación para detectar la presencia del parásito y seguidamente el conteo de tripanosomas en la cámara de Neubaüer. Al realizar la dilución para la cámara de Neubaüer se utilizó la pipeta de Thomas para glóbulos blancos, la cual se llenó con sangre hasta la marca 1,0 y seguidamente se continuó el llenado con solución diluyente hasta la marca 1,1 obteniéndose una dilución de 1:10. La solución diluyente fue preparada con 10 mL de oxalato de amonio (1%) y 2 gotas de azul de metileno (1%) [32]. La cámara fue llenada con esta dilución y se contaron los tripanosomas presentes en los cuatro cuadrantes de las esquinas de la cámara, utilizando un microscopio de contraste de fase (Axioskop X20, Zeiss), visualizándose con objetivo de 40X. El número de tripanosomas contados en la cámara se multiplicó por 25.000 (factor de dilu-

ción \times volumen de la cámara / 4) y la parasitemia se expresó en Tryp/mL.

Parámetros hematológicos

El volumen del paquete celular, hemoglobina y número total de leucocitos (NTL) fueron determinados mediante las técnicas del microhematocrito, cianometahemoglobina y hemocitómetro respectivamente [15]. Las proteínas totales en plasma fueron medidas a través de un refractómetro (Spartan A 300 CL) y los resultados expresados en g/dL. Se elaboraron frotis de capa blanca de acuerdo a la técnica descrita por Jain [15], para detectar la presencia de tripanosomas y de otros hemoparásitos. Estos frotis fueron coloreados con Dip Quick Stain (Jorgensen Laboratories, Inc. Loveland, USA) y observados en un microscopio óptico de luz (Axioskop X20, Zeiss) con objetivo de 100X.

Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de la infección experimental se aplicó un modelo matemático correspondiente a un diseño de parcelas divididas en el tiempo [4]. Se procedió a seleccionar la estructura de covarianza de los errores más apropiada siguiendo el procedimiento "Mixed" del paquete estadístico "Statistical Analysis System" [30], que resultó ser la compuesta simétrica. Las variables dependientes evaluadas fueron: temperatura corporal, parasitemia, hematocrito, hemoglobina, número total de leucocitos (NTL) y proteínas totales.

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + A(\tau)_{j(i)} + P_k + \tau P_{ik} + E_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk} = Variable dependiente en el k-ésimo día medido sobre la j-ésima unidad experimental sujeta al i-ésimo tratamiento.

μ = Media general de las observaciones.

τ_i = Efecto del i-ésimo tratamiento ($i = 1,2$).

$A(\tau)_{j(i)}$ = Efecto del j-ésimo animal anidado dentro del i-ésimo tratamiento ($j = 1,2,\dots,8$).

P_k = Efecto del k-ésimo día ($k = 1,2,\dots,90$).

τP_{ik} = Efecto de la interacción del k-ésimo día por el i-ésimo tratamiento.

E_{ijk} = Efecto de los factores no controlables sobre las unidades experimentales.

En el modelo anterior se asume que $A(\tau)_{j(i)}$ y E_{ijk} son elementos aleatorios e independientemente distribuidos con media 0 y varianzas δ_A^2 y δ_E^2 , respectivamente. El resto de los efectos se asumieron fijos. Se utilizó la instrucción LSMEANS para efectuar comparaciones de medias mediante prueba de t. La correlación entre las variables estudiadas se realizó por el coeficiente de correlación de Pearson. Para todos los análisis se utilizó un nivel de significancia máximo del 5% ($P < 0,05$).

RESULTADOS

La evaluación de los parámetros hematológicos y temperatura corporal de los ovinos del grupo experimental y del grupo control, en el período pre-infección, estuvieron dentro de los valores considerados fisiológicamente normales para la especie [15], por lo que no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Los cambios en la temperatura corporal se evidenciaron a partir del 2do. día post-inoculación (PI), esta primera alza térmica coincidió con el hallazgo de *T. vivax* en sangre circulante. En el transcurso de la infección, los valores promedios de temperatura del grupo infectado oscilaron entre $38,7 \pm 0,2^\circ\text{C}$ y $41,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$; mientras que la temperatura promedio del grupo control estuvo entre $38,7 \pm 0,4^\circ\text{C}$ y $39,3 \pm 0,4^\circ\text{C}$, detectándose diferencias significativas entre ambos grupos ($P < 0,05$), FIG. 1. Todos los animales inoculados mantuvieron un cuadro febril

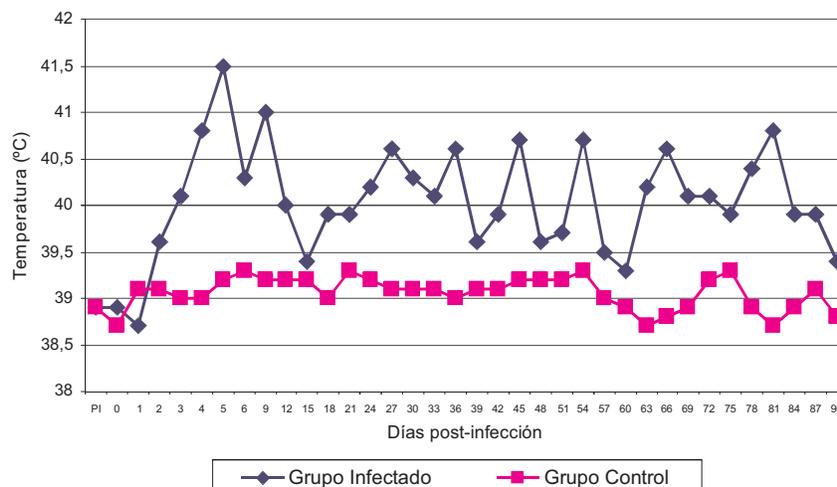


FIGURA 1. VARIACIÓN DE LOS PROMEDIOS DE LA TEMPERATURA CORPORAL (°C) EN OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *T. vivax* Y EN EL GRUPO CONTROL, DURANTE EL PERÍODO DE PRE Y POST-INFECCIÓN.

durante casi todo el período de experimentación, con cortos períodos afebriles.

Los tripanosomas fueron detectados en sangre desde el 2do día PI a través de la técnica de microcentrifugación [39] y, a partir del 5to. día mediante el conteo en cámara de Neubauer. Los animales inoculados presentaron durante todo el ensayo períodos de alta parasitemia, intercalados con períodos de baja parasitemia, en este último caso se presentaron días en los cuales no fueron observados tripanosomas en sangre, FIG. 2.

Los niveles más altos de parasitemia fueron observados durante las primeras cuatro semanas post-inoculación, posteriormente se presentaron variaciones individuales en cuanto a los niveles de parasitemia y los intervalos entre un pico y otro. El primer pico de parasitemia ocurrió el día 5to. PI en los cuatro animales experimentales, además, fue posible identificar entre 8 y 9 picos de parasitemia para cada animal en toda la

fase de infección. Los animales controles permanecieron negativos a tripanosomas durante el período del ensayo.

Los cambios en los valores del hematocrito comenzaron a detectarse en los primeros días post-inoculación. Estos valores descendieron rápidamente en las dos primeras semanas de la infección y, ya para el día 12 PI alcanzaron el nivel más bajo (18,5%), FIG. 3. Luego de esta fase los animales infectados, mostraron una ligera recuperación en los valores del hematocrito entre el día 15 y 75 PI, sin embargo, se observó un nuevo descenso entre los días 78 y 90 PI. A pesar de evidenciar un corto período de recuperación, los animales continuaron con un cuadro de anemia hasta el final del periodo experimental. Los valores del hematocrito del grupo experimental y del grupo control reflejaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$), a partir del día 5 PI manteniéndose esta condición hasta el último día del ensayo.

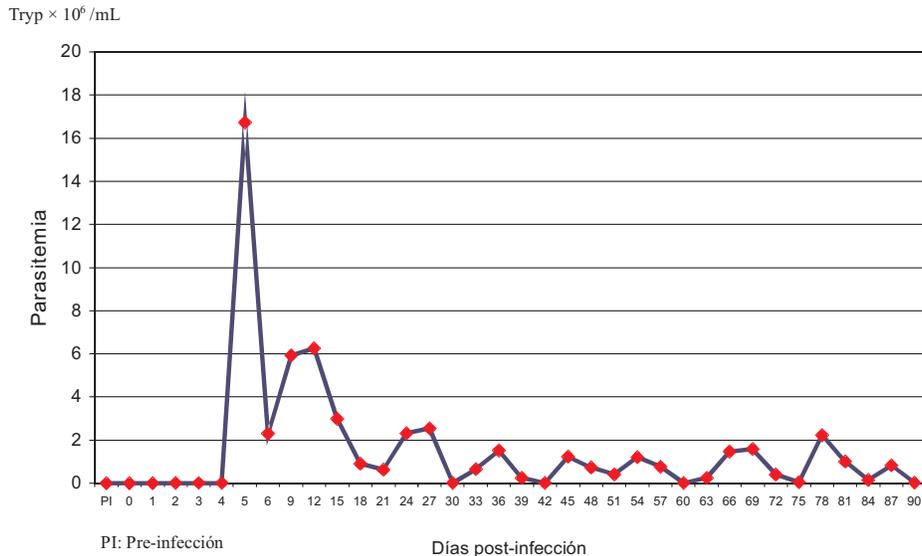


FIGURA 2. VARIACIÓN DE LOS VALORES DE LA PARASITEMIA (TRYP/mL) EN OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *T. vivax*.

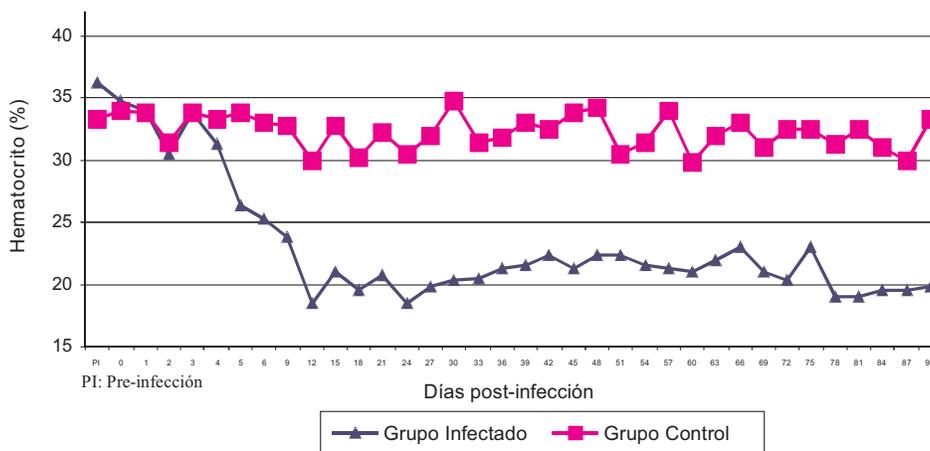


FIGURA 3. VARIACIÓN EN LOS VALORES DEL HEMATOCRITO (%) EN OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *T. vivax* Y EN EL GRUPO CONTROL, DURANTE EL PERÍODO DE PRE Y POST-INFECTACIÓN.

En la FIG. 4, se observan las variaciones presentadas en la concentración de hemoglobina en los animales del grupo control y del grupo experimental durante el período pre y post-infección, donde se evidencia una clara disminución de este parámetro hematológico una vez realizada la inoculación. Los animales parasitados iniciaron con un promedio de hemoglobina de $12,4 \pm 0,6$ g/dL, llegando a valores de $6,3 \pm 1,0$ g/dL en la última semana de evaluación. A partir del 4to día PI hasta el final del muestreo, se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los valores medios de ambos grupos.

La variación semanal de los promedios del número total de leucocitos (NTL) de los animales infectados y controles, durante el período pre y post-infección, es mostrada en la FIG. 5. Después de la inoculación con *T. vivax*, el NTL disminuyó en todos los animales infectados de 10.581 ± 881 a 6.414 ± 1.886 leucocitos/ μ L, durante la primera semana post-inoculación, para luego repuntar a 8.634 ± 1.594 leucocitos/ μ L en la segun-

da semana; sin embargo, estas variaciones no fueron estadísticamente significativas con respecto al grupo control.

En general, la cuenta leucocitaria de los animales inoculados descendió y permaneció por debajo de los valores del grupo control, durante toda la fase infecciosa, a pesar de mantenerse dentro de los parámetros considerados fisiológicamente normales para la especie. Esta situación fue más evidente en las semanas 3, 4, 5 y 6 de la infección. Al comparar el promedio general de leucocitos del grupo inoculado (6.528 ± 2.708 leucocitos/ μ L) con el promedio general del grupo control (8.296 ± 1.909 leucocitos/ μ L) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

En la fase de infección, se observó una disminución en los valores de las proteínas totales de los ovinos parasitados entre los días 9 y 33 PI, dichos valores estuvieron por debajo del rango señalado como normal para la especie [15]. Sin embargo, al comparar estos resultados con los del grupo con-

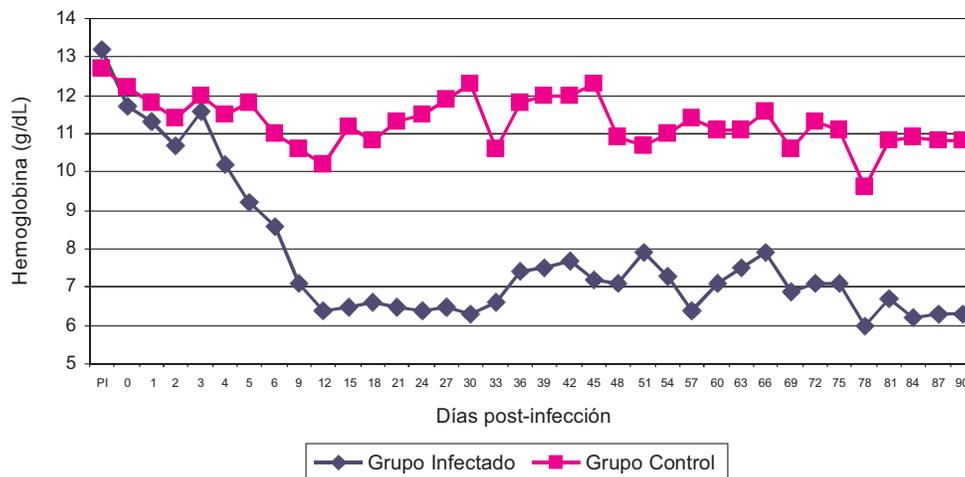


FIGURA 4. VARIACIÓN DE LOS PROMEDIOS DE LA HEMOGLOBINA (g/dL) EN OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *T. vivax* Y EN EL GRUPO CONTROL, DURANTE EL PERÍODO DE PRE Y POST-INFECCIÓN.

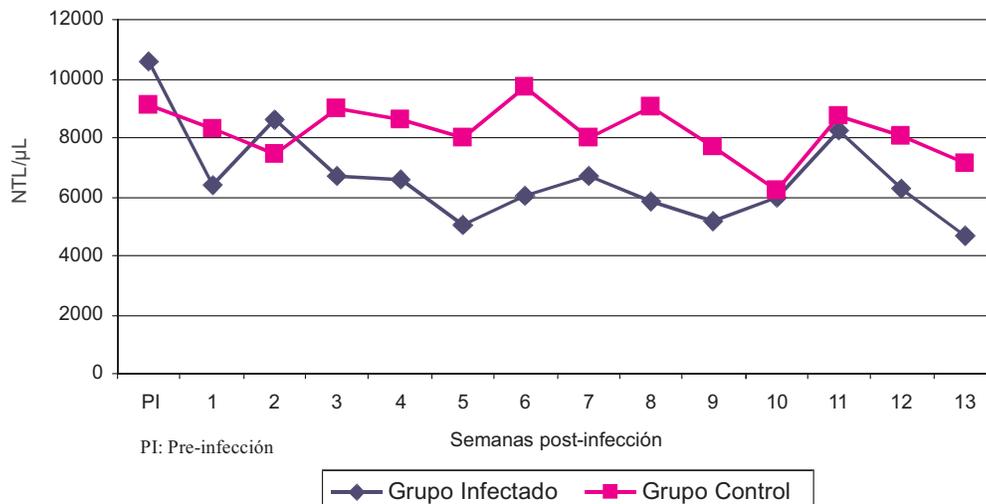


FIGURA 5. VARIACIÓN DE LOS PROMEDIOS DEL NÚMERO TOTAL DE LEUCOCITOS (NTL/ μ L) EN OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *T. vivax* Y EN EL GRUPO CONTROL, DURANTE EL PERÍODO DE PRE Y POST-INFECCIÓN.

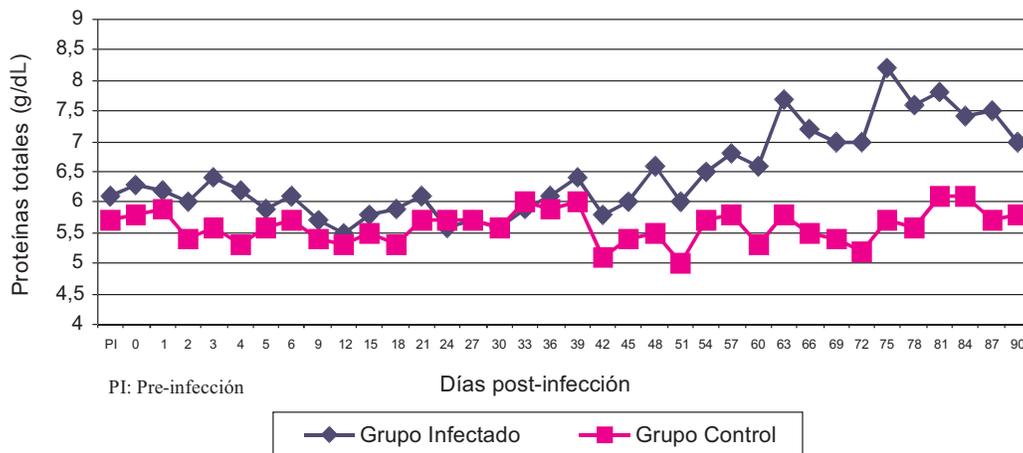


FIGURA 6. VARIACIÓN DE LOS PROMEDIOS DE PROTEÍNAS TOTALES (g/dL) EN OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *T. vivax* Y EN EL GRUPO CONTROL, DURANTE EL PERÍODO DE PRE Y POST-INFECCIÓN.

rol, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, FIG. 6.

A partir del día 48 PI los ovinos enfermos comenzaron a incrementar los valores de proteínas totales, mostrando diferencias significativas ($P < 0,05$) entre ambos grupos experimentales. El valor más alto ($8,2 \pm 1,0$ g/dL) se observó el día 75 PI y descendió a $7,0 \pm 0,7$ g/dL el día 90 PI. En la comparación de las medias totales entre el grupo control y el infectado se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0,05$).

DISCUSIÓN

El curso de la infección experimental con *T. vivax* permitió la identificación de dos fases. Una primera fase, observada durante las primeras cuatro semanas del período post-infección, en la cual los animales infectados presentaron altos niveles de parasitemia, fiebre intermitente y un descenso significativo en los valores del hematocrito y hemoglobina, con respecto al grupo control. Los valores promedios de glóbulos blancos disminuyeron principalmente en la primera semana post-infección. A partir de la quinta semana del período post-infección, los animales inoculados entraron en una segunda fase, caracterizada principalmente por niveles de parasitemia menores a los detectados en la fase anterior, fiebre intermitente, así como por persistencia de bajos valores del hematocrito y hemoglobina, incremento significativo de la concentración de proteínas plasmáticas y normalización de la cuenta leucocitaria. Estas observaciones son similares a las reportadas en otras investigaciones sobre tripanosomosis ocasionadas por *T. vivax* en rumiantes [2, 3, 21, 29, 32].

En los animales inoculados con *T. vivax* se determinó un aumento de la temperatura corporal a partir del segundo día post-infección, esta primera alza térmica coincidió con el hallazgo de los tripanosomas en sangre circulante. Estos resultados también han sido detectados en estudios sobre tripanosomosis experimental en ovinos [18, 21, 27, 32] y en bovinos [9,

36]. Durante todo el ensayo, los ovinos infectados presentaron temperaturas superiores al grupo control, con largos períodos febriles intercalados con cortos períodos afebriles, lo cual le confiere carácter remitente a este parámetro clínico. El comportamiento anterior concuerda con lo señalado por Klein [18], y por Sandoval y col. [26], quienes inocularon ovinos con *T. vivax*. Así mismo, Katunguka y col. [17], al evaluar ovinos infectados con *T. congolense*, encontraron alzas en la temperatura corporal que fluctuaron en el transcurso de la infección, aún cuando se mantuvieron por encima de los valores del grupo control.

Los tripanosomas se observaron en sangre a partir del segundo día de la inoculación, este corto período de incubación es similar al reportado por Maikaje y col. [21], en ovinos infectados con *T. vivax*. Diversas investigaciones sobre *T. vivax* evidencian diferencias en cuanto al período de incubación, relacionando esta variabilidad con la cepa del parásito y la especie animal afectada [16, 22, 37].

El período de incubación observado en el presente estudio difiere de los resultados obtenidos en el país con cepas de *T. vivax*. En tal sentido, Espinoza [9], detectó un período de incubación de 4 y 6 días al inocular bovinos con una cepa de *T. vivax* procedente del estado Guárico. Sandoval y col. [26], utilizando el mismo aislado de *T. vivax* pero, en ovinos, reportan un período de incubación de 4 días. Por su parte, Suárez [32], al infectar ovinos con una cepa aislada del estado Falcón, encontró un período de incubación entre 4 y 5 días. En el presente estudio el período de incubación fue de 2 días, este resultado se debió probablemente a que el *T. vivax* utilizado corresponde a una cepa de campo, obtenida de un bovino con infección natural y replicada solo una vez en un ovino antes de la inoculación experimental, sin pasar por procesos de congelación.

Los animales inoculados con *T. vivax* desarrollaron rápidamente un cuadro de anemia que persistió hasta el final ensayo. Los valores del hematocrito y de la hemoglobina descen-

dieron drásticamente en las dos primeras semanas del período post-infección, alcanzando los valores más bajos el día 12 PI. Luego de este período se observó poca variación en estos parámetros, a pesar de detectarse una ligera recuperación entre los días 15 y 75 PI, dicha recuperación no alcanzó los valores considerados fisiológicamente normales y los animales infectados continuaron anémicos.

Disminuciones drásticas del hematocrito y de la hemoglobina también han sido reportadas en infecciones naturales o experimentales con *T. vivax* en ovinos [2, 7, 14, 21], en bovinos [3, 10, 31] y en caprinos [2, 22, 23, 29]. Cambios similares fueron igualmente reportados en estudios sobre tripanosomosis en Venezuela por Sandoval y col. [27], quienes observaron un descenso del 25 y 30% en el valor del hematocrito y de un 31% en la concentración de hemoglobina, en ovinos infectados con *T. vivax*. De igual forma, los resultados de la presente investigación se corresponden con los obtenidos por Suárez [32], quién señala un rápido descenso en los valores del hematocrito y de la hemoglobina en ovinos inoculados con *T. vivax*, los cuales alcanzaron los valores más bajos el día 39 post-infección. En cuanto a infecciones por *T. vivax* en bovinos, Espinoza [9], así como, González y Espinoza [12], observaron descensos significativos del hematocrito y de la hemoglobina en los animales afectados.

La anemia inducida por la acción del *T. vivax* en los ovinos infectados, fue la característica patológica más importante en el transcurso de la enfermedad, el origen de tal afección es discutido por diversos autores. Entre los factores involucrados en el desarrollo inicial de la anemia son considerados: la hemólisis extravascular, la hemodilución compensatoria y una posible diseritropoyesis [3, 10, 29]. Eritrofagocitosis a nivel de bazo, hígado y médula ósea ha sido observada en infecciones por *T. vivax*, lo que confirma el rol de la hemólisis extravascular en el desarrollo de la anemia [3, 10]. Además, se sugiere que la diseritropoyesis se debe a una eritropoyesis inefectiva aunada a la presencia de eritroblastos de pequeño tamaño o con mitosis anormal. Otro posible mecanismo de diseritropoyesis sería una producción deficiente de eritropoyetina [3, 14]. Reportes de infecciones por *T. vivax* y *T. congolense* en ruminantes, indican que los tripanosomas o sus productos pueden ser responsables en la iniciación de la anemia y que, la actividad exacerbada del sistema fagocítico mononuclear en conjunto con la producción de autoanticuerpos para eritrocitos normales en animales infectados, puede ser la principal causa del mantenimiento de bajos valores del hematocrito [10, 17].

El comportamiento del NTL en los ovinos infectados refleja una disminución de sus promedios semanales principalmente durante la primera semana post-infección, tiempo en el cual se desarrolló el primer pico de parasitemia. Estos resultados están en concordancia con los expuestos por otros autores [2, 3, 8]. En general, durante toda la fase infecciosa, la cuenta leucocitaria de los animales inoculados con *T. vivax* estuvo por debajo del grupo control, a pesar de que no se detectó una verdadera leucopenia, ya que los valores de los anima-

les parasitados fluctuaron dentro de los rangos considerados como normales para la especie.

En investigaciones sobre tripanosomosis por *T. vivax*, en ruminantes, se describe una leucopenia inicial, luego de lo cual ocurre una recuperación de los valores de los leucocitos hasta cerca de los niveles de preinfección [2, 8, 9]. En Venezuela, Sandoval y col. [28], al inocular ovejas con *T. vivax*, identificaron una leucopenia moderada, durante las fases aguda y subaguda de la enfermedad. Un comportamiento diferente es reportado por Katunguka y col. [17], quienes obtuvieron un significativo aumento en el NTL en ovinos infectados experimentalmente con *T. congolense*, basada principalmente en una linfocitosis.

La leucopenia ha sido atribuida a un mecanismo de leucofagocitosis como consecuencia del revestimiento de los leucocitos con antígenos de los tripanosomas [20], así como también a la liberación por parte de los tripanosomas de neuroaminidasas en la fase inicial de la infección [8]. Anosa y col. [3], demostraron que la leucopenia, advertida en bovinos infectados con *T. vivax* fue debida a la fagocitosis de granulocitos maduros y sus precursores, aunado a una hipoplasia general de los precursores de la médula ósea.

En referencia a las proteínas totales, los ovinos inoculados con *T. vivax*, manifestaron una disminución en la concentración de proteínas totales entre la segunda y quinta semana de la infección. Luego de este período, comenzaron a incrementarse y se mantuvieron con niveles por encima del grupo control hasta el final del ensayo. Los resultados de esta investigación, con relación a las proteínas totales, son similares a los encontrados por Maikaje y col. [21], y Sandoval y col. [25], en ovinos inoculados con *T. vivax*. Disminuciones significativas en la concentración de proteínas totales también fueron halladas por Audu y col. [5], al infectar ovinos con *T. evansi*; sugiriendo que los mecanismos involucrados en el descenso de las proteínas totales serían: el incremento en la destrucción de proteínas o pérdida de urea, hemodilución y extravasación de plasma, lo cual, pudiera causar edema en los animales afectados. Por otra parte, la usual elevación del volumen plasmático en los animales infectados con tripanosomas, como compensación al descenso de valores de eritrocitos, pueden producir dilución de la concentración de solutos plasmáticos, dentro de los cuales están incluidas las proteínas [1].

CONCLUSIONES

La infección experimental en ovinos con la cepa de *T. vivax* aislada en el estado Zulia cursó con un período de incubación corto (2 días), coincidiendo la aparición de los tripanosomas en sangre con el incremento de la temperatura corporal.

La rápida disminución de los indicadores hematológicos, hematocrito y hemoglobina, concomitante a la detección del *T. vivax* en sangre conllevó a la instauración de un cuadro de anemia, la cual, persistió durante todo el período experimental.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES), por el apoyo financiero. Así mismo, a la Policlínica Veterinaria de la Universidad del Zulia por el soporte logístico otorgado a la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANOSA, V.O. Haematological and biochemical changes in human and animal Trypanosomiasis. Part II. **Revue D'Elevage et De Medicine Veterinaire des Pays Tropicaux**. 41(2): 151-164. 1988.
- [2] ANOSA, V.O.; ISOUN, T.T. Haematological studies on *Trypanosoma vivax* infection of goats and intact and splenectomized sheep. **J. Comp. Path.** 90: 155-168. 1980.
- [3] ANOSA, V.O.; LOGAN-HENFREY, L.L.; SHAW, M.K. A light and electron microscopic study of changes in blood and bone marrow in acute hemorrhagic *Trypanosoma vivax* infection in calves. **Vet. Pathol.** 29: 33-45. 1992.
- [4] ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; ROMÁN, R.; ISEA, W.; VILLASMIL, Y. Evaluación predestete de becerros cruzados utilizando medidas repetidas. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. X(3): 240-250. 2000.
- [5] AUDU, P.A.; ESIEVO, K.A.N.; MOHAMMED, G.; AJANUSI, O.J. Studies of infectivity and pathogenicity of an isolate of *Trypanosoma evansi* in Yankasa sheep. **Vet. Parasitol.** 86: 185-190. 1999.
- [6] DUNO, F. Prevalencia de la tripanosomiasis bovina en la región nor-oriental del estado Falcón. División de Postgrado FCV-UCV. (Trabajo de grado). 135 pp. 1992.
- [7] ELHASSAN, E.; IKEDE, B.O.; ADEYEMO, O. Trypanosomosis and reproduction: II. Effect of *Trypanosoma vivax* infection on pregnancy and post-partum cyclicity in ewes. **Trop. Anim. Hlth Prod.** 27: 9-14. 1995.
- [8] ESIEVO, K.A.N.; SAROR, D.I. Leukocyte response in experimental *Trypanosoma vivax* infection in cattle. **J. Comp. Path.** 93: 165-169. 1983.
- [9] ESPINOZA, E. Evaluación clínica, parasitológica y serológica de bovinos infectados experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. División de Postgrado FCV-UCV. (Trabajo de Grado). 221 pp. 1988.
- [10] FACER, C.A.; CROSSKEY, J.M.; CLARKSON, M.J.; JENKINS, G.C. Immune haemolytic anaemia in bovine trypanosomiasis. **J. Comp. Path.** 92: 393-401. 1982
- [11] GARDINER, P.R. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. **Adv. Parasitol.** 28: 229-317. 1989.
- [12] GONZALEZ, N.; ESPINOZA, E. Experimental infection with *T. vivax* in holstein-cebu cows, during the last trimester of gestation and the post partum period. First International Seminar on Non-tsetse Transmitted Animal Trypanosomes (summary). Annecy, Francia. Octubre. 140 pp. 1992.
- [13] GOOSSENS, B.; OSAER, S.; KORA, S.; NDAO, M. Haematological changes and antibody response in trypano-tolerant sheep and goats following experimental *Trypanosoma congolense* infection. **Vet. Parasitol.** 79: 283-297. 1998.
- [14] IGBOKWE, I.O.; ANOSA, V.O. Response to anaemia in experimental *Trypanosoma vivax* infection of sheep. **J. Comp. Path.** 100: 111-118. 1989.
- [15] JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Lea & Febiger. 4th Ed. Philadelphia: 21-86 pp. 1986.
- [16] KALU, U; EDGHERE, H.; LAWANI, F. Comparison of diagnostic techniques during subclinical single infections of tripanosomiasis in goats. **Vet. Parasitol.** 22: 37-47. 1986.
- [17] KATUNGUKA, R.E.; MURRAY, M.; HOLMES, P.H. The pathophysiology of ovine trypanosomosis: haematological and blood biochemical changes. **Vet. Parasitol.** 45: 17-32. 1992.
- [18] KLEIN, J. Diagnóstico de la tripanosomiasis bovina por *Trypanosoma vivax* mediante inoculación experimental en ovinos. **Rev. de Med. Vet. y Parasitol. FCV-UCV**. XXV (1-8): 112-142. 1974.
- [19] LUMSDEN, W.H.; HERBERT, J.; McNEILLEGE, J.C. Techniques with Trypanosomes. Churchill Livingstone. Edimburg, London. 183 pp. 1973.
- [20] MACKENZIE, P.K.I; BOYT, W.P.; NESHAM, V.W.; PIRIE, E. The aetiology and significance of the phagocytosis of erythrocytes and leucocytes in sheep infected with *Trypanosoma congolense* (Broden, 1904). **Res. Vet. Sci.** 24: 4-7. 1978.
- [21] MAIKAJE, D.B.; SANNUSI, A.; KYEWALABYE, E.K.; SAROR, D. I. The course of experimental *Trypanosoma vivax* infection in Uda sheep. **Vet. Parasitol.** 38: 267-274. 1991.
- [22] MASAKE, R. A. The pathogenesis of infection with *Trypanosoma vivax* in goats and cattle. **Vet. Rec.** 107: 551-557. 1980.
- [23] MAVARE, M. Efecto de la infección experimental de *Trypanosoma vivax* sobre parámetros clínicos, hematológicos y niveles de progesterona en cabras. División de Postgrado FCV-UCV. (Trabajo de grado). 101pp. 1996.
- [24] RIVERA, A.M. **Hemoparasitosis Bovinas**. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. 1^a Ed. Anauco Ediciones, C.A. Caracas – Venezuela. 15- 84 pp. 1996

- [25] SANDOVAL, E.; ESPINOZA, E.; VALLE, A. Cambios en las proteínas séricas de ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. **Vet. Trop.** 20: 45-66. 1995a.
- [26] SANDOVAL, E.; ESPINOZA, E.; VALLE, A. Parasitemia y comportamiento clínico en ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. **Vet. Trop.** 20: 67-81. 1995b.
- [27] SANDOVAL, E.; ESPINOZA, E.; VALLE, A. Valoración hematológica en ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** V(3): 147-159. 1995c.
- [28] SANDOVAL, E.; ESPINOZA, E.; VALLE, A. Leucopenia y trombocitopenia en ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. **Vet. Trop.** 21(1): 13-33. 1996.
- [29] SAROR, D.I. Observations on the course and pathology of *Trypanosoma vivax* in Red Sokoto goats. **Res. Vet. Sci.** 28: 36-38. 1980.
- [30] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). Cary, NC. USA. Versión 6,12. 1996.
- [31] SILVA, R.A.M.S.; RAMÍREZ, L.; SOUZA, S.S.; ORTIZ, A.G.; PEREIRA, S.R.; DÁVILA, A.M.R. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Vet. Parasitol.** 85: 87-93. 1999.
- [32] SUAREZ, P. C. Evaluación de los parámetros de la coagulación sanguínea en ovinos infectados experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. División de Postgrado FCV-UCV. (Trabajo de grado). 109 pp. 2000.
- [33] TAMASAUKAS, R.; ROA, N. Epidemiología básica agroecológica de la trypanosomiasis bovina por *T. vivax*, en el estado Guárico, Venezuela. **Rev. Fac. Cien. Vets. U.C.V.** 38 (1-8): 143-165. 1992.
- [34] TORO, M. Seroepidemiología de las hemoparasitosis en Venezuela. En: **Hemoparásitos: Biología y Diagnóstico**. Giardina, S. y García, F. (Eds). USB. Caracas, Venezuela. Cuaderno N° 1. 35-49 pp. 1990.
- [35] TORO, M.; LEÓN, E.; LÓPEZ, R.; RUIZ, A. Resultados de un muestreo sobre tripanosomiasis bovina mediante técnicas serológicas. **Vet. Trop.** 5(1): 43-50. 1980.
- [36] VALLI, V.; FORSBERG, C.; ROBINSON, G. The pathogenesis of *Trypanosoma congolense* infection in calves. I. Clinical observations and gross pathological changes. **Vet. Pathol.** 15: 608-620. 1978.
- [37] VENTURA, R.; PAIVA, F.; SILVA, R.A.M.S.; TAKEDA, G.; BUCK, G.; TEIXEIRA, M. *Trypanosoma vivax*: Characterization of the spliced-leader gene of a brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic spacer sequence. **Exp. Parasitol.** 99: 37-48. 2001.
- [38] WELLS, E.A.; BETANCOURT, A.; RAMIREZ, L.E. *Trypanosoma vivax* in Colombia. Epidemiology and economic impact. **World Anim. Rev.** July/September: 17-23. 1982.
- [39] WOO, P.T.K. The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. **Canad. J. of Zool.** 47(5): 921-923. 1969.