

# TRYPANOSOMA VIVAX EM BOVINOS NO PANTANAL DO ESTADO DO MATO GROSSO DO SUL, BRASIL: II – INOCULAÇÃO EXPERIMENTAL

F. PAIVA<sup>1</sup>, R.A.A. LEMOS<sup>1</sup>; L. NAKAZATO<sup>1</sup>; K.B. BRUM<sup>2</sup>; K.C. BERNARDO<sup>2</sup>; C.R. MADRUGA<sup>3</sup> & M.A. SCHENK<sup>3</sup>

(1) Universidade Federal de Mato do Sul, Campo Grande, MS – Brasil, E-mail: [fernando@nin.ufms.br](mailto:fernando@nin.ufms.br)

(2) Acadêmicas de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

(3) Pesquisadores CNPQC/EMBRAPA

**SUMÁRIO:** Realizou-se infecção experimental em bovinos com *Trypanosoma vivax*, utilizando um isolado colhido na região sul do Pantanal, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Foram utilizados dois caprinos esplenectomizados para multiplicação do inóculo, e inoculados cinco bovinos jovens, com  $2,5 \times 10^5$  *Trypanosoma vivax* por animal, mantidos em baias de isolamento por todo o período experimental. Os animais eram observados diariamente quanto a ingestão de alimentos e estado geral, periodicamente realizou-se exames clínicos, registro da temperatura corporal, coleta de sangue para exames parasitológicos, hematológico, dosagens de fibrinogênio e proteínas. Ao final de sessenta e cinco dias foi realizado sacrifício e necrópsia dos animais, seguido de exame anatomopatológico e histopatológico. Os animais mantiveram bom estado corporal, a ingestão de alimentos foi inalterada, a temperatura corporal média elevou-se nos dias 4 ao 9 mantendo-se em 39°C até o dia 23 pós-infecção (PI), quando retornou aos valores normais. O volume globular manteve-se dentro dos parâmetros previstos para a categoria animal, porém com acentuada redução do dia 1 ao 18 PI elevando-se posteriormente. Foi observada leucocitose, com predominância de linfócitos a partir do dia 28 PI até o final do experimento e eosinopenia entre os dias 23 e 60 PI. Detectou-se parasitas no sangue no dia 7 até o 37, sendo que no dia 14 PI foi observada a maior quantidade. Após o dia 57 PI não foram detectadas formas parasitas no sangue. Não ocorreram alterações nas dosagens de proteínas. Não foram observadas alterações anatomopatológicas de caracter específico. Em todos os animais constatou-se miocardite não supurativa multifocal e em três glomerulonefrite não supurativa multifocal sub-aguda. Concluiu-se, frente aos resultados, que os animais criados em boas condições nutricionais e sanitárias possuem capacidade de superar a infecção causada pelo isolado de *T. vivax* testado; no entanto, é recomendado não substituí-lo como agente secundário quando em associação com outras patologias.

**PALAVRAS CHAVES:** *Trypanosoma vivax*, tripanosomíase, bovinos, inoculação experimental.

## INTRODUÇÃO

Para melhor conhecimento das características etiopatogênicas de um agente frente a fatores diversos daquelas da região de origem, a inoculação experimental de animais susceptíveis sob condições controladas, permite estabelecer o perfil clínico-patológico do agente ou da amostra populacional em estudo, possibilitando uma descrição do quadro evolutivo da infecção e do poder de virulência do agente.

Experimentos com esta finalidade usando *Trypanosoma vivax* são relatados na literatura, não havendo, porém, uma padronização quanto ao inóculo inicial; outro aspecto é a variabilidade de resultados em relação à morbidade e/ou mortalidade.

VAN DEN INGH & NEIJS-BAKER (1979) estudaram o curso de infecção em novilhas após inocular  $10^5$  de *Trypanosoma vivax*. Destacaram que a parasitemia, a redução no volume globular e a elevação da temperatura corporal foram características comuns nos animais; confirmando as observações constatadas em outro experimento realizado pelos mesmos (VAN DEN INGH *et alii*, 1976). Em relação a parasitemia, observaram que esta alternou-se com períodos em que os parasitas não eram detectados no sangue.

GARDINER *et alii* (1989) descreveram síndrome hemorrágica em animais infectados artificialmente com *T. vivax*, com amostra populacional do Quênia, que se caracterizou por profunda anemia e hemorragia nas orelhas, narinas e reto. À necropsia observaram petéquias hemorrágicas no tubo gastrointestinal,

congestões, hemorragias, alterações degenerativas em tecidos e órgãos e eritrofagocitose; concluindo que este quadro deve ser fatal em condições de campo. Porém, no artigo, não consta o número de parasitas inoculados.

ANENE *et alii* (1991) em estudo comparativo sobre sintomatologia, hematologia e prevalência de *Trypanosoma vivax* na Nigéria, reportaram que tanto animais europeus quanto zebus expostos a infecção natural apresentavam-se em boas condições e boa saúde, porém com volume globular baixo. Entre as alterações do quadro hematológico, a anemia foi considerada a de maior destaque e importância.

A trombocitopenia foi constatada na primeira semana de infecção experimental realizada por ASSOKU & GARDINER (1989) e iniciou-se simultaneamente a detecção dos parasitas, o que os autores consideraram como um processo não imunológico que poderia estar relacionado ao processo de lise das plaquetas.

FACER *et alii* (1982) atribuíram a etiologia da anemia nas tripanosomíases como relacionada a vários fatores, tais como: hemodiluição, hemólise extravascular e redução na atividade hematopoiética. E ainda, consideraram que as imunorreações na superfície dos eritrócitos contribuem para a anemia ao estimular a opsonização por anticorpos anti-*T. vivax* resultando na imediata remoção destas células da corrente circulatória.

Lesões no músculo cardíaco foram descritas por van den INGH & NEIJS-BAKER (1979) caracterizadas por infiltrado mononuclear sem, no entanto, observaram manifestação clínica nos animais. WHITELAW, GARDINER & MURRAY (1988) registraram a presença extravascular de formas parasitárias em líquido cefaloraquidiano e humor aquoso do olho de caprinos inoculados com 104 *Trypanosoma vivax*. KIMETO *et alii* (1990) também, descreveram lesões hemorrágicas com infiltrado mononuclear atribuindo a reação inflamatória no miocárdio a presença extravascular da *T. vivax*.

CAMUS & MARTRENCAR (1990) infectaram experimentalmente 19 bezerros zebus com um ano de idade, com uma cepa de *T. vivax* colhida na Guiana Francesa. Observaram febre moderada, queda no hematócrito e perda de peso, sendo que um animal morreu durante o experimento. Além destes sintomas verificaram outras manifestações clínicas, as quais atribuíram ao parasitismo, como: diarreia, enfartamento ganglionar, lacrimejamento e fraqueza.

SEKONI *et alii* (1990), estudando comparativamente as alterações hematológicas causadas por *T. vivax* e *T. congolense* através de inoculação experimental, concluíram que os resultados por eles encontrados se contradizem com a crença geral na África ocidental, de que as cepas de *T. vivax* são mais patogênicas que as de *T. congolenses*.

REYNOLDS & EKWURUKE (1988) comparando o efeito nutricional sobre a infecção por *T. vivax* concluíram que animais submetidos a baixos níveis nutricionais são mais susceptíveis a infecção do que aqueles bem nutridos. KATUNGUKA-RWAKISHAYA, MURRAY & HOLMES (1997) consideraram que a susceptibilidade dos animais à tripanosomíases está associada a vários fatores, tais como: mal nutrição, infecções

intercorrentes, prenhez, lactação e trabalho excessivo; destacam, porém, a nutrição como o fator mais importante.

Com os relatos da presença da *Trypanosoma vivax* no rebanho bovino da região do Pantanal, houve grande celeuma entre os técnicos quanto a real participação deste agente na saúde animal. Para uns uma grande tragédia para a economia regional e de países vizinhos, pois o agente, como descrito em algumas referências, teria alta patogenicidade para os bovinos. No entanto, não havia dados conclusivos que pudessem confirmar tal previsão, pois na região algumas patologias são endêmicas e os animais convivem com elas sem grandes comprometimentos sanitários ou econômicos.

Considerando que estudos preliminares em rebanhos naturalmente infectados não configuravam o isolado de *T. vivax* com as características trágicas como apregoados por alguns técnicos. Decidimos realizar infecção experimental para definir o perfil patogênico do agente, sob condições controladas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Inóculo

De um bovino fêmea, raça zebu, com cerca de 8 anos de idade, naturalmente infectado por *T. vivax*, criado em região do Pantanal, município de Miranda, Estado de Mato Grosso do Sul, foi colhida amostra de sangue total, usando como anticoagulante solução de EDTA a 10%, na proporção de 1 gota para cada 5 ml de sangue. A amostra colhida foi examinada para constatação da parasitemia, usando a técnica do microhematócrito (Woo, 1970), seguida de identificação específica através de estudos morfométricos em esfregaço sanguíneo, corado pelo May Grunwald/Giemsa.

Para obtenção do inóculo com número suficiente de *T. vivax* utilizaram-se dois caprinos machos, castrados, de 18 meses de idade, previamente esplenectomizados, criados em região livre de *T. vivax*, que foram inoculados com a amostra de sangue colhida, como descrita acima.

A inoculação foi realizada por injeção subcutânea de 10 ml de sangue na região dorsolateral direita, sendo que o inóculo foi mantido à temperatura ambiente desde a coleta até a inoculação; totalizando um período de 4 horas e 15 minutos.

Durante o período experimental os animais foram mantidos em isolamento no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, alimentados com forragem verde (*Panicum maximum* e *Leucena sp*) *ad libitum*. Para aumentar a parasitemia os caprinos foram medicados com dexametasona durante dez dias consecutivos usando a dose terapêutica recomendada pelo fabricante.

### Animais Experimentais

Foram selecionados, cinco bovinos, três machos e duas fêmeas, com idade variando entre 16 e 24 meses, obtidos de cruzamento de raças zebu e européia (Nelore x Hereford), criados em área livre de *T. vivax*, previamente dosificados com anti-helmínticos e banhados com formulações carrapaticidas, foram

identificados, pesados, coletadas amostras de sangue e fezes para exames laboratoriais e alojados em baias de isolamento protegidas contra insetos e de acesso restrito às equipes de pesquisa, localizada no Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte – CNPGC/ EMBRAPA, em Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul.

A alimentação dos bovinos no período experimental consistiu de feno de braquiária (*Brachiaria decumbens*) *ad libitum*, mistura mineral comercial e concentrado proteico constituído por grãos de milho e soja com nível de proteína bruta de 18%, fornecido na quantidade de 2,5 kg diários por animal. Os primeiros dias tiveram como finalidade adaptá-los às condições de estabulamento e regime alimentar antes da inoculação.

### Inoculação

No décimo sétimo dia pós-inoculação os caprinos atingiram nível parasitário em número suficiente para infectar os bovinos. A contagem foi realizada em câmara de Neubauer, utilizando a seguinte solução como diluente: 1,6 ml de solução fisiológica, 10 µl de Tween 80 e 10 µl de solução de violeta genciana a 2%. Nesta solução era adicionado 20 µl de sangue total, que após homogeneização procedeu aplicação na câmara e a contagem na área correspondente de eritrócitos. Em cinco quadrantes eram contados todos os *Trypanosoma vivax* presentes e o resultado multiplicado por 10.000.

Todos os bovinos foram inoculados com sangue total do caprinos contendo como anticoagulante EDTA a 10%, imediatamente colhido do animal doador e inoculados, cada um com  $2,5 \times 10^5$  *Trypanosoma vivax*, através de injeção subcutânea na região escapular direita.

Diariamente os animais eram observados de forma geral e periodicamente realizados exames clínicos com ênfase na temperatura corporal, estado geral e nutrição; na coleta de sangue para exames parasitológicos, pela técnica descrita por WOO (1970) e esfregaço sangüíneo corado, e avaliados o hemograma completo e dosagens de fibrinogênio, proteínas totais e plasmática.

### Necropsia

Ao final do período experimental, ocorrido no dia 65 pós-infecção (PI), os animais foram sacrificados e necropsiados para exames anatomopatológicos e histopatológicos; com exame cuidadoso de toda a carcaça, em busca de alterações patológicas. Fragmentos de órgãos e tecidos foram coletados, fixados em solução de formaldeído a 10% e posteriormente processados por técnicas histológicas para estudos microscópicos

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Desenvolvimento da Infecção nos Caprinos

Nos caprinos a parasitemia foi constatada no dia 10 e no dia 17 pós-infecção (PI) atingiu o número esperado para inoculação nos bovinos. Logo após a coleta do sangue, para inoculação nos

bovinos, os caprinos foram sacrificados e necropsiados. Não foram observadas alterações anatomopatológicas e histopatológicas dignas de nota.

### Desenvolvimento da Infecção e Aspectos Clínicos nos Bovinos

Os animais inoculados mantiveram bom estado corporal durante todo o experimento, não sendo possível, no entanto, realizar pesagens sucessivas para controle do peso em virtude das condições de isolamento na qual se encontravam. A ingestão de alimentos foi mantida inalterada durante todo o período experimental.

Após a inoculação a temperatura corporal média do lote apresentou gradativa elevação do dia 4 ao 9 PI quando atingiu 39,8°C, mantendo-se acima de 39,0°C até o dia 23 PI; a partir deste dia, oscilou entre 38,5 e 39,0°C. O volume globular médio, apesar de ter se mantido dentro dos parâmetros de normalidade estabelecidos para categoria animal, apresentou marcada redução do dia 1 até o 18 PI, elevando-se gradativamente após esta data. Nos resultados, representados na Figura 1, é possível constatar a relação entre a parasitemia e a hipertermia e, ainda, a ação dos parasitas na redução do volume globular, o que indica rápida atuação destes na destruição extravascular de eritrócitos. Com a redução da parasitemia e posterior desaparecimento dos parasitas; a temperatura corporal retorna aos parâmetros de normalidade e o volume globular eleva-se de forma satisfatória, permitindo aos animais uma rápida recuperação do quadro hemático.

Além da parasitemia, a hipertermia e a redução no volume globular foram os aspectos constatados imediatamente à infecção; a medida em que o número de parasitas circulantes decrescia a temperatura corporal diminuía e o quadro hemático apresentava recuperação. O volume globular apresentou média semelhante àquelas observadas por SEKONI *et alii* (1990).

O eritrograma manteve-se dentro dos parâmetros considerados normais para a espécie e categoria animal, porém com redução nas contagens dos dias 1 ao 16 PI e subsequente elevação até o dia 47 PI, estabilizando-se após o dia 51 PI. Observou-se, na média do lote, leucocitose a partir do dia 28 ao 37 PI, ocorrendo outra elevação no dia 46, que persistiu até o final do experimento. Esta leucocitose foi predominantemente de linfócitos e constatada no dia 28 PI persistindo até o final do experimento (Figura 2). Ocorreu uma eosinopenia no período compreendido entre os dias 23 e 60 PI.

As alterações verificadas nestes parâmetros coincidiram com a detecção da parasitemia em todos os animais a partir do dia 7 PI, a qual manteve-se presente, em todo o grupo até o dia 37 PI; no dia 14 foi observada a maior concentração de parasitas no sangue. A constatação de parasitas no sangue ocorreu, novamente no dia 42 PI somente em dois animais e no dia 56 apenas em um. Não foi constatada parasitemia, pelas técnicas empregadas, nos animais a partir desta última data até o fim do experimento.

O período pré-patente e a curva parasitêmica observadas no experimento coincidiram com aquelas observada por VAN DEN

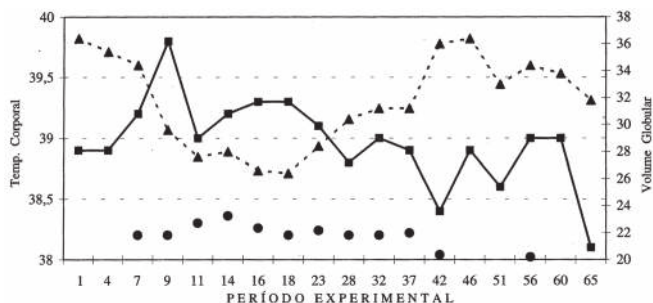


Fig. 1 – Temperatura corporal média em °C (-■-), volume globular médio em % (-●-) e representação qualitativa da parasitemia (-●-), durante infecção experimental de bovinos com *T. vivax*.

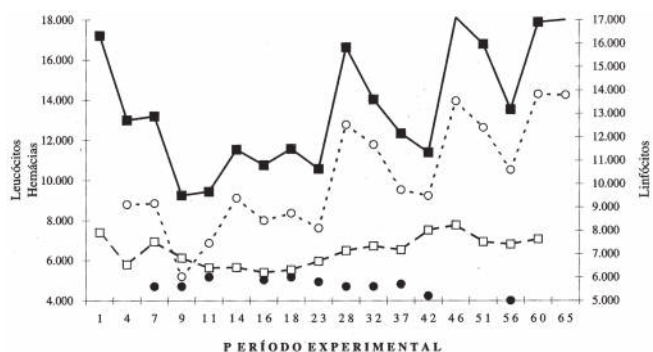


Fig. 2 – Contagens médias de leucócitos (-■-), hemácias x 1000 (-□-), linfócitos (-○-) e representação qualitativa da parasitemia (-●-) no lote durante infecção experimental de bovinos com *T. vivax*.

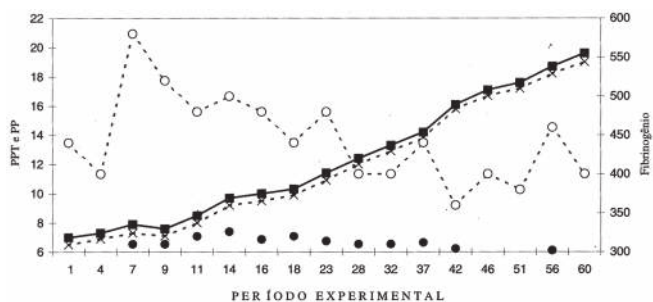


Fig. 3 – Dosagens médias de proteínas plasmáticas totais (g/l) – PPT (-■-), proteínas plasmáticas (g/l) – PP (-●-), fibrinogênio (g/l) (-○-) e representação qualitativa da parasitemia (-●-) durante infecção experimental de bovinos com *T. vivax*.

INGH *et alii* (1976); VAN DEN INGH *et alii* (1976a); FACER *et alii* (1982); ESIEVO & SAROR (1983); BARRY (1986) e ASSOKU & GARDINER (1989).

Nas dosagens das proteínas plasmáticas totais e proteínas plasmáticas (Figura 3) as médias apresentaram redução nos dias 7 a 11 PI e elevação nos 42 a 46 PI, mantendo-se dentro dos limites de normalidade estabelecidos para a categoria animal nos demais dias. As dosagens médias de fibrinogênio mantiveram-se normais durante todo o experimento, apesar de

ter sido observada uma redução no dia 42 PI, o que pode ser relacionado à capacidade do agente em promover coagulação intravascular.

Considerando a resposta dos animais expressas por: hipertermia, linfocitose, eosinopenia, elevação das proteínas plasmáticas totais e proteínas plasmáticas sugerem capacidade de reação orgânica e do sistema imunológico de forma eficientes contra o agente invasor. Como evidências desta capacidade temos a restauração do volume globular e elevação na contagem de eritrócitos; demonstrando a recuperação da hematopoiese, mesmo não tendo sido caracterizado um quadro anêmico. A linfocitose e eosinopenia observadas, após a terceira semana até o final do experimento, coincidiram com o aumento das proteínas plasmáticas e conseqüente redução e eliminação da parasitemia. As quais permitem concluir que as respostas dos hospedeiros foram satisfatória no combate ao agente parasitário, que se expressou pela redução e posterior eliminação dos parasitas da circulação.

Quando das necropsias foram observados, em três animais, aumento de líquido no saco pericárdico; em dois, pequeno aumento no tamanho do baço e, em um, aumento no tamanho do fígado. Os achados anatomopatológicos verificados durante as necropsias têm caráter inespecífico e não significativos sob aspecto patológico, considerando a magnitude dos mesmos.

Nos exames histopatológicos constatou-se miocardite não supurativa multifocal com localização perivascular, que variou de discreta a moderada com características de evolução sub-aguda a crônica nos cinco animais. Em três animais evidenciou-se glomerulonefrite não supurativa multifocal sub-aguda.

O quadro de miocardite não supurativa multifocal com localização perivascular, coincide com os relatos de VALLI (1993) e de VAN DEN INGH & NEIJS-BAKKER (1979), que também, como neste experimento, não observaram manifestações clínicas compatíveis com insuficiência cardíaca pelos animais.

Com relação à glomerulonefrite não supurativa multifocal sub-aguda, também é citada por VALLI (1993) e, de acordo com as características histopatológicas evidenciadas, a etiopatogenia pode ser atribuída a complexos de antígenos/anticorpos produzidos pela infecção, já relatado por VAN DEN INGH *et alii* (1976) e por CONFER & PANCIERA (1990).

Os resultados obtidos coincidem com os descritos por ESIEVO *et alii* (1981) e SEKONI *et alii* (1990) onde afirmaram que a infecção por *T. vivax* se caracteriza pela alteração no quadro hematológico. E ainda, que esta infecção pode ser controlada pelo animal através da resposta do sistema imunológico, expressa pela autocura, o que também foi observado por MURRAY & BLACK (1985); NANTULYA *et al* (1986); BARRY (1986); UZOIGWE (1986); SEKONI *et alii* (1990) e MELENDEZ *et alii* (1993).

A inoculação experimental de  $2,5 \times 10^5$  *Trypanosoma vivax* em bovinos jovens, não provocou manifestações clínicas, além da hipertermia e as alterações do quadro hemático foram sub-clínicas. Assim, na hipótese de um animal estar infectado, nas condições acima descritas, o criador não detectaria qualquer anormalidade, pois as alterações constatadas no experimento foram verificadas laboratorialmente.

Frente aos resultados é possível concluir que bovinos mantidos em bom estado sanitário e nutricional possuem capacidade de expressar resposta orgânica satisfatória, frente à infecção por *Trypanosoma vivax*, considerando amostra populacional isolada na região do Pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul.

Destaca-se que em condições naturais é impossível ocorrer infecção em quantidade compatível com aquela utilizada no experimento. O que confirma a hipótese de que o agente estudado não é, isoladamente, capaz de causar a morte do animal, quando este é criado em boas condições de manejo sanitário e nutricional. Pois nestas condições possuem capacidade de expressar reação orgânica eficiente para suprimir a infecção pelo isolado de *T. vivax* obtido no Pantanal.

Consideramos importante alertar que, frente às características patogênicas observadas nos animais parasitados, este parasita não deve ser subestimado pois poderá se expressar quando em associação com outros agentes ou em condições de manejos nutricionais e/ou sanitários precários. Conferindo-lhe assim, aspecto de agente secundário para o qual os profissionais médicos veterinários e pecuaristas devem estar alertas.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo Contrato de Prestação de Serviços nº 292/97 estabelecido entre a Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Cultura; Departamento de Defesa Sanitária Animal e Vegetal – IAGRO e a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, contido no Processo nº 06/101.484/97.

## SUMMARY

An experimental infection with *Trypanosoma vivax*, was carried out using an isolate from animals bred in the southern region of Pantanal, Mato Grosso do Sul State, Brazil. Five yearling cattle were inoculated each with  $2,5 \times 10^5$  *Trypanosoma vivax*, held in an isolation area throughout the experimental period. The animals were observed daily for food intake and general condition, periodically clinical examinations were done, body temperature measured, blood sampled for parasitological, haematological, fibrinogen and protein dosage. On the 65<sup>th</sup> day the animals were sacrificed and necropsies done followed by anatomic and histopathological examinations. During the experimental period the infected animals maintained a good body condition, the food intake was unchanged, the average temperature increased on days 4 to 9<sup>th</sup> stabilizing at 39°C until day 23<sup>th</sup> pos-infection (PI), then returning to the normal value. The packed cell volume remained within the parameters for the animal category, although showed several decreases from the first to 18<sup>th</sup> day PI, when it increased once more. Leucocytosis was observed with the predominance of lymphocytes after 28<sup>th</sup> day PI and eosinopenia around the 23 and 60<sup>th</sup> day PI. Parasites were detected in the blood from the 7 to 37<sup>th</sup> day PI, the highest

parasitemia was observed on day 14. After the 57<sup>th</sup> day PI no parasites were detected in the blood. Protein dosages were at normal values. In the anatomopathological aspects no specific alteration was observed. In all the animals, a non-suppurative multifocal myocarditis was seen and in three animals a non-suppurative multifocal subacute glomerulonephritis. It was concluded that animals bred under good general conditions of nutrition and sanitation have the capability of supporting the infection due to this *T. vivax* which was isolated and tested; but this should not be underestimated as a opportunist agent, when associated with other pathologies.

KEY WORDS: *Trypanosoma vivax*, trypanosomiasis, cattle, experimental infection.

## REFERÊNCIAS

- ANENE, B. M.; CHIME, A. B.; JIBIKE, G. I. & ANIKA, S. M. (1991). Comparative study of clinical signs, hematology and prevalence of trypanosomiasis in Holstein Friesian and White Fulani Zebu cattle exposed to natural infection in a rain forest zone of Nigeria. *Angewandte Parasitologie* 32(2): 99-104
- ASSOKU, R.K.G. & GARDINER, P.R. (1989). Detection of antibodies to platelets and erythrocytes during infection with hemorrhage-causing *Trypanosoma vivax* in Ayrshire cattle. *Veterinary Parasitology* 31(3-4): 199-216.
- BARRY, J.D. (1986). Antigenic variation during *Trypanosoma vivax* infections of different host species. *Parasitology* 92(1): 51-66.
- CAMUS, E. & MARTRENCAR, A. (1990). Infection expérimentale de zébus guyanais avec *Trypanosoma vivax*. *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire des pays Tropicaux*, 43, 467-472.
- CONFER, A.W. & PANCIERA, R.J. (1990). Patologia Veterinária Especial, Sistema Urinário. *Editor RG TOMSON, Ed.Manole, Brasil, pp 497-530.*
- ESIEVO, K.A.N. & SAROR, D.I. (1983). Leukocyte response in experimental *Trypanosoma vivax* infection in cattle. *J. Comp. Path.* 93:165-169
- ESIEVO, K.A.N.; SAROR, D.I.; ILEMOBADE, A. A. & HALLAWAY, M.H. (1981). Variation in erythrocyte surface and free serum sialic acid concentration during experimental *Trypanosoma vivax* infection in cattle. *Research in Veterinary Science*, 32: 1-5.
- FACER, C. A.; CROSSKEY, J.M.; CLARKSON, M.J. & JENKINS, G.C. (1982). Immune haemolytic anaemia in bovine trypanosomiasis. *J. Comp. Path.*, 92:393-401.
- GARDINER, P. R.; ASSOKU, R. K. G.; WHITELAW, D. D. & MURRAY, M. (1989). Hemorrhagic lesions resulting from *Trypanosoma vivax* infection in Ayrshire cattle. *Veterinary Parasitology* 31(3-4): 187-198.
- KATUNGUKA-RWAKISHAYA, E.; MURRAY, M. & HOLMES, P.H. (1997). The influence of supplementation with cotton seed cake on the resistance of Uganda goats to primary and

- secondary challenges with *Trypanosoma congolense* and on their response to treatment. *Veterinary Parasitology*, 70:67-76.
- KIMETO, B. A.; MUGERA, G. M. & NYAGA, P. N. (1990). Hemorrhagic pancarditis in cattle infected with *Trypanosoma vivax*. *Veterinary Parasitology* 34(4): 295-302.
- MELENDEZ, R. D.; FORLANO, M. & FIGUEROA, W. (1993). Perinatal infection with *Trypanosoma vivax* in a calf in Venezuela. *Journal of Parasitology* 79(2): 293-294.
- MURRAY, M. & BLACK, S. J. (1985). African trypanosomiasis in cattle: working with nature's solution. *Veterinary Parasitology*, 18: 167-182.
- NANTULYA, V.M.; MUSOKE, A.J. & MOLOO, S.K. (1986). Apparent exhaustion of the variable antigen repertoires of *Trypanosoma vivax* in infected cattle. *Infection and Immunity* 54:444-447.
- REYNOLDS, L. & EKWURUKE, J. O. (1988). Effect of *Trypanosoma vivax* infection on West African dwarf sheep at two planes of nutrition. *Small Ruminant Research* 1(2): 175-188.
- SEKONI, V. O.; SAROR, D. I.; NJOKU, C. O.; KUMIDIKA, J. & OPALUWA, G. I. (1990). Comparative hematological changes following *Trypanosoma vivax* and *Trypanosoma congolense* infections in Zebu bulls. *Veterinary Parasitology* 35(1-2): 11-20.
- UZOIGWE, N. R. (1986). Self-cure in Zebu calves experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Veterinary Parasitology* 22(1-2): 141-146.
- VALLI, V.E.O. (1993). The haematopoietic System. In JUBB, K.V.F; KENNEDY, P.C. & PALMER, N. Pathology of Domestic Animals. Vol.(3), 4 edition, Academic Press, San Diego, U.S.A.. pp 101-265.
- Van den INGH, T.S.G.A.M.; ZWART, D.; SCHOTMAN, A. J.H.; Van MIERT, A. S.J.P.A.M. & VEENENDAAL, G.H. (1976). The pathology and pathogenesis of *Trypanosoma vivax* infection in the goat. *Research in Veterinary Science*, 21:264-270.
- Van den INGH, T.S.G.A.M.; ZWART, D.; Van MIERT, A. S.J.P.A.M. & SCHOTMAN, A. J.H. (1976)a. Clinico-pathological and pathomorphological observations in *Trypanosoma vivax* infection in cattle. *Veterinary Parasitology*, 2: 237-250.
- Van den INGH, T.S.G.A.M. & NEIJS-BAKKER, M.H. de. (1979). Pancarditis in *Trypanosoma vivax* infection in cattle. *Tropenmed. Parasit.* 31:239-243.
- WHITELAW, D. D.; GARDINER, P. R. & MURRAY, M. (1988). Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: The central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. *Parasitology* 97(1): 51-62.
- WOO, P.T.K. (1970). The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta Tropica*, 27:384-386.