

EFEECTO DE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *TRYPANOSOMA VIVAX* SOBRE LA CALIDAD SEMINAL E HISTOPATOLOGÍA TESTICULAR EN CARNEROS MESTIZOS WEST AFRICAN

Effect of *Trypanosoma vivax* Experimental Infection on Seminal Quality and Testicular Histopathology of Crossbred West African Rams

Héctor Soto^{*1}, José Gavidia^{**}, Ignacio Contreras^{**}, Ángel Bello^{*}, Luis Silva^{**}
y Francisco García^{**}

^{*}Centro de Estudios Biomédicos y Veterinarios, Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez, Caracas 1041-A, Apdo. 47925. ^{**}Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Maracay 2101, Apdo. 4563. Venezuela.

Correo-E: hectorsoto45@hotmail.com

Recibido: 29/06/04 - Aprobado: 20/10/05

RESUMEN

Con el objetivo de estudiar el efecto de la infección experimental de *Trypanosoma vivax* sobre la calidad seminal y la estructura histológica testicular de carneros mestizos West African, se emplearon diez carneros de 18 meses de edad y peso promedio de $36,1 \pm 1$ kg. Seis de ellos fueron escogidos al azar e inoculados por vía endovenosa con 10^6 *Trypanosoma vivax* y el resto fueron asignados como grupo control. La motilidad masal e individual, la viabilidad y el porcentaje de atipias, fueron medidos una vez al mes, un mes antes de la inoculación y durante cuatro meses después de la misma. Al finalizar el ensayo, se llevaron a cabo estudios histopatológicos de los testículos de los carneros, de ambos grupos, para comparar los daños causados por la infección con *Trypanosoma vivax* en los túbulos seminíferos y tejido intersticial. Los datos

ABSTRACT

To study the effect of experimental infection of *Trypanosoma vivax* on seminal quality and testicular histopathology in crossbred West African rams ten 18 month-old rams, weighing 36.1 ± 1 kg, and with a good body condition score were used. Six animals chosen randomly were inoculated with 10^6 *Trypanosoma vivax*, by intravenous route. The rest of the animals was the control group. Sperm mass and individual motility, viability and percentage of abnormal sperms were measured monthly, one month before inoculation, and four times following inoculation. Testicular histopathology of both groups was carried out to compare damage in seminiferous tubules, and interstitial tissue caused by *Trypanosoma vivax* at the end of the assay. Data were analyzed by nonparametric methods. Differences ($P < 0,01$) between groups for mass and individual motility,

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (Corresponding Author).

de la calidad seminal fueron analizados por métodos no paramétricos, encontrándose diferencias ($P < 0,01$) entre ambos grupos para motilidad masal e individual, viabilidad y porcentaje de atipias. Los hallazgos histopatológicos revelaron daños extensos en el tejido intersticial y túbulos seminíferos en los carneros inoculados. Los resultados demostraron que los carneros de pelo pueden desarrollar infertilidad debido al deterioro del tejido testicular y de la calidad seminal, producto de la infección por *Trypanosoma vivax*.

(Palabras clave: Carnero, razas (animales), West African, *Trypanosoma vivax*, semen, infección experimental, testículos)

viability and percentage of abnormal sperm were found. The histopathological study demonstrated extensive damage of interstitial tissue and seminiferous tubules in inoculated rams. The results demonstrated that tropical hair rams infected with *Trypanosoma vivax* may develop infertility due to deterioration of testicular tissue and seminal quality.

(Key words: Ram, breeds (animals), West Africans, *Trypanosoma vivax*, semen, experimental infection, testes)

INTRODUCCIÓN

El impacto negativo que tiene el *Trypanosoma vivax* sobre la actividad reproductiva de rumiantes machos y hembras, ha sido estudiado por diversos autores (Agu et al., 1986; Sekoni, 1992a,b; 1994; González, et al., 1996; González y Espinosa, 1997). Los cuadros de infertilidad producidos por este parásito, han tenido un significativo impacto sobre la productividad de los rebaños en áreas donde la enfermedad es endémica. Se ha demostrado que en la especie ovina, el *T. vivax* produce alteraciones de la función testicular (Anosa e Isoun, 1980), por diversos mecanismos, tales como: (a) una disminución en la síntesis y/o liberación de la hormona estimuladora de las células de intersticiales (ICSH) (Mutayoba et al., 1997), (b) disminución en la calidad del semen en términos de volumen, concentración, viabilidad, motilidad individual y porcentaje de atipias espermáticas (Sekoni, 1992a,b); y (c) signos de atrofia testicular caracterizados por

degeneración testicular, calcificación de las células germinales, degeneración fibroblástica e infiltración de células linfocitares en el área intersticial (Isoun y Anosa, 1974; Anosa e Isoun, 1980; Sekoni, 1994). Sin embargo, existe poca información acerca del efecto que produce el *T. vivax* sobre la calidad seminal y la estructura histológica del testículo en ovinos tropicales de pelo en países de América Latina. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la infección experimental de *T. vivax* sobre la calidad seminal y la integridad del tejido testicular en carneros tropicales de pelo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo desde Octubre de 1999 hasta Febrero de 2000, en las instalaciones de la Cátedra de Parasitología y en la Unidad Experimental de Producción Caprina de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela, localizada en la parte Norte y Central de Venezuela a 10°20'

latitud Norte, 67°38' longitud Oeste y a una altitud de 452 metros sobre el nivel del mar. El promedio de temperatura, humedad relativa y precipitaciones fueron de 25° C, 70 % y 700 mm, respectivamente.

Diez carneros mestizos de la raza West African con una edad de 18 meses, peso corporal de $36,1 \pm 1$ kg y libres de hemoparásitos, fueron asignados al azar en los siguientes grupos: un grupo experimental ($n = 6$), donde cada animal fue inoculado (por I.V. en la vena yugular) con 10^6 parásitos de un aislado local de *T. vivax*, obtenido de un bovino y previamente criopreservado en una solución de dimetil-sulfóxido al 10% en nitrógeno líquido a -196 °C; y un grupo control ($n=4$), no inoculado. Los grupos fueron separados y confinados en corrales de 9 m², equipados con una malla metálica para prevenir la entrada de insectos que pudieran actuar como vectores. Todos los animales fueron alimentados con 500 g de un alimento concentrado comercial (11% proteína cruda), agua y forraje en forma de heno (*Cynodon dactylon*) suministrado *ad libitum*.

El grado de parasitemia de los animales infectados, se evaluó diariamente durante las primeras cinco semanas y posteriormente una vez a la semana hasta los cuatro meses después de la inoculación. Esta variable fue medida usando la técnica parasitológica reportada por Murray *et al.* (1977) y Paris *et al.* (1982). Asimismo, se realizó un registro diario de la temperatura corporal y otros signos clínicos en ambos grupos experimentales.

Las muestras de semen, obtenidas por electroeyaculación, fueron evaluadas para determinar la calidad seminal en términos de motilidad masal (MM): escala del 1 al 4, motilidad individual (MI), porcentaje de atipias (AT) empleando bromofenol

azul y porcentaje de espermatozoides vivos o viabilidad (VI), usando azul tripan.

Todos los animales fueron castrados en la última semana del experimento. Los testículos fueron cortados longitudinalmente en dos partes y cada una de estas fue dividida en tres partes: superior, media e inferior. Posteriormente, estas fueron fijadas en solución de Bouin y luego embebidas en parafina, para realizar los respectivos cortes histológicos. Todos los cortes fueron coloreados con hematoxilina-eosina y algunas con tricómico de Gallego. Las muestras de tejido fueron observadas y fotografiadas (Kodak Gold® - ASA 100) en un microscopio de luz con cámara incorporada (Carl Zeiss®; modelo D-7082) con un aumento de 125 y 200X.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos para evaluar la calidad de semen, fueron analizados por métodos no paramétricos (Kruskall-Wallis) usando el Sistema de Análisis Estadísticos SAS (1989). Dichos análisis y resultados fueron reportados por Contreras *et al.*, (2001).

RESULTADOS

El grupo infectado desarrolló los signos clásicos de la enfermedad, coincidiendo con aquellos reportados por Suárez (2000) y Mavare (2000), observándose un período de incubación de 7 a 14 días. La enfermedad se inició con una fase aguda, caracterizada por una parasitemia ondulante, que luego fue seguida por un período sub-agudo, caracterizado por una disminución en el grado de parasitemia y pocos cambios en la cuenta leucocitaria. Finalmente hubo una tercera fase, en la cual los animales entraron en un cuadro crónico, con valores

hematológicos similares a los presentados antes de la infección. Los principales signos clínicos observados en las tres fases fueron: hipertermia intermitente, ictericia, aumento de volumen de los nódulos linfáticos superficiales (inguinales y supraescapulares), edema submandibular, disminución de la condición corporal, orquitis y epididimitis. Es importante señalar que la orquitis y la epididimitis se presentaron durante la fase sub-aguda de la enfermedad, en el carnero 1 a los 36 días y en el carnero 6 a los 75 días, post-infección. El carnero 1 presentó una orquitis más severa (con pirexia, dolor, rubor y edema durante 31 días), que el carnero 6. Finalmente, ambos carneros sufrieron un cuadro de atrofia testicular luego del cuadro de orquitis.

Todos los animales presentaron características seminales adecuadas antes de la inoculación experimental, específicamente en relación a los parámetros: motilidad masal e individual y porcentaje de espermatozoides anormales y vivos. Luego de la inoculación, estos parámetros fueron alterados de forma negativa en los carneros del grupo infectado (ver primera parte del estudio en Contreras *et al.*, 2001).

En el examen físico y en el estudio macroscópico, los testículos demostraron ser más flácidos a la palpación en los animales del grupo infectado que en los del grupo control. La mayoría de los animales de este grupo (4/6) presentaron áreas alopecicas en el escroto. El carnero 1 (grupo infectado) desarrolló una atrofia testicular bilateral y una fibrosis, la cual se evidenció cuando se llevó a cabo la orquidectomía. Asimismo, se observó una marcada fibrosis y palidez del mediastino testicular, en todos los animales infectados.

En contraste con lo obtenido en el grupo control, donde los túbulos seminíferos y el tejido intersticial se

encontraron normales (Figura 1), los animales infectados presentaron atrofia de los túbulos seminíferos con erosión del epitelio germinal en varios grados de intensidad. Algunos animales (2/6) mostraron una degeneración testicular moderada, observándose degeneración del epitelio germinal con dos a tres capas celulares (Figura 2), mientras otros dos animales (carneros 1 y 6), presentaron una marcada degeneración testicular con dos capas de células, representadas por espermatogonias y células de Sertoli, evidenciándose en esta última línea celular, una vacuolización citoplasmática (Figura 3). El animal 7 (grupo infectado), manifestó una ligera degeneración del epitelio germinal, con zonas de actividad espermatogénica normal en la mayoría de los túbulos seminíferos; algunos túbulos se observaron azospérmicos y con espermacitogénesis deprimida. En el estrato celular se evidenció picnosis y descamación epitelial en algunos túbulos atroficos; en un animal (número 10), se evidenció estasis espermática con necrosis tubular y calcificación distrófica. En todos los animales infectados la mayoría de los túbulos seminíferos presentaron pocas espermátides, lo cual indica una disminución de la capacidad espermatogénica.

Todos los animales infectados mostraron un espacio intersticial engrosado, con moderada a marcada fibroplasia e infiltración mononuclear constituida por macrófagos y plasmocitos. La infiltración mononuclear fue evidente alrededor de los espacios sub-capsular e intracapsular de los vasos, produciendo una reducción en el grosor de los mismos (Figura 3). Otros hallazgos histopatológicos a nivel vascular fueron la congestión y la hialinización de las arteriolas, neoformación capilar a nivel intersticial, trombos de fibrina y estasis linfática. Cabe destacar que el carnero 6 del grupo infectado, presentó una

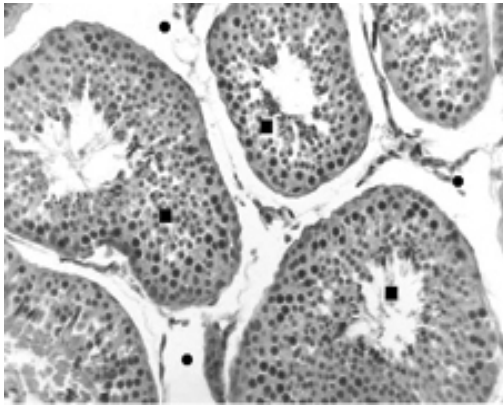


Figura 1. Micrografía del tejido testicular de un carnero del grupo control (no infectado con *T. vivax*). Obsérvese los túbulos seminíferos (cuadrado) y el espacio intersticial (círculo) de aspecto normales. Hematoxilina - Eosina 200X

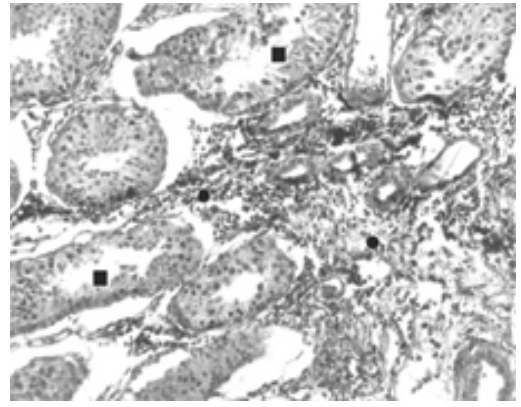


Figura 2. Micrografía del tejido testicular de un carnero infectado con *T. vivax*, con moderada degeneración testicular. Obsérvese el infiltrado mononuclear (círculo) en el espacio intersticial y la degeneración moderada a nivel de los túbulos seminíferos (cuadrado). Tricrómico de Gallego 125X

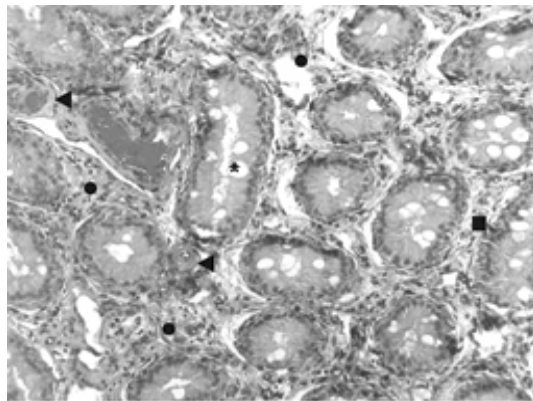


Figura 3. Micrografía del tejido testicular de un carnero infectado con *T. vivax*, con infiltrado de las células mononucleares (círculo) en la región intersticial y especialmente alrededor de los vasos (punta de flecha). Nótese igualmente la fibroplasia (cuadrado) a nivel intersticial y la vacuolización (asterisco) de las células de Sertoli. Tricrómico de Gallego 125X

fibroplasia moderada así como también una infiltración mononuclear moderada (principalmente plasmocitos y linfocitos) a nivel de la *re testis*.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio revelaron que el *T. vivax* produce un efecto

adverso en la calidad seminal de los carneros, afectando: la motilidad masal, la motilidad individual, la viabilidad y el porcentaje de atipias, coincidiendo con lo encontrado en ovinos y caprinos (Isoun y Anosa, 1974; Agu *et al.*, 1986; Sekoni, 1992a,b; 1994) y bovinos (De Stefano *et al.*, 1999). Sin embargo,

la motilidad masal, la cual no fue considerada por los investigadores anteriormente citados, fue incluida en el presente estudio (ver la primera parte del estudio en Contreras *et al.*, 2001), ya que esta variable depende tanto de la concentración de espermatozoides como del porcentaje y velocidad de espermatozoides que se mueven de forma progresiva (Barth, 1997). El efecto adverso del *T. vivax* sobre la calidad del semen puede ser consecuencia de varios eventos producidos, tales como: una reducción en la secreción de LH, debido al daño y la disfunción a nivel hipofisiario y una disminución de la respuesta a esta hormona por parte de las células intersticiales de Leydig, lo cual trae como consecuencia una caída de la capacidad esteroidogénica de estas últimas, especialmente durante los períodos febriles y estados de hipoxia (Masake, 1980; Sekoni, 1994; Igbokwe, 1994; Mutayoba *et al.*, 1997; De Stefano *et al.*, 2000). Otro factor que contribuye a la baja calidad del semen es la muerte celular debido al daño por: edema escrotal, periorquitis granulomatosa no supurativa, atrofia, calcificación y esclerosis (Isoun y Anosa, 1974; Ikede, 1979; Anosa e Isoun, 1980).

Las lesiones macroscópicas y microscópicas encontradas en el presente estudio, corresponden con aquellas encontradas por algunos autores quienes han trabajado con varias especies de tripanosomas africanos (*T. vivax*, y *T. brucei*) tanto en animales domésticos como de laboratorio. En este sentido, Isoun y Anosa (1974), señalaron una atrofia testicular severa en carneros y machos cabríos infectados experimentalmente con *T. vivax*, mientras que Anosa y Kaneko (1984), reportaron la presencia de una atrofia testicular

progresiva en ratones infectados con *T. brucei*.

La alopecia hallada en el escroto de los animales del grupo infectado, coincide con los hallazgos reportados en ovinos y caprinos infectados por *T. vivax* y en cobayos y conejos infectados con *T. brucei* (Ikede y Akpavie, 1982; Omeke y Onuora, 1992). Probablemente, ésta sea debida a un mecanismo individual o local de defensa, para reducir el cuadro de hipertermia a nivel de la superficie escrotal (Isoun y Anosa, 1974; Anosa e Isoun, 1980).

Los hallazgos microscópicos concuerdan con los reportados por Isoun y Anosa (1974) y Anosa e Isoun (1980), en carneros y machos cabríos infectados con *T. vivax*. Estos autores establecieron tres tipos de alteraciones a nivel de los túbulos seminíferos: (a) ligera degeneración con reducción del epitelio germinal, (b) degeneración moderada del epitelio seminífero, el cual está constituido por dos o tres capas celulares (principalmente espermatogonias, espermatoцитos y células de Sertoli) y (c) degeneración severa con reducción del epitelio germinal a una sola capa celular (principalmente espermatogonias y células de Sertoli).

El mecanismo por el cual el *T. vivax* produce lesiones degenerativas a nivel del testículo está relacionado con la elevada actividad metabólica y tasa de biosíntesis de este órgano, lo cual está íntimamente relacionado con la producción de millones de espermatozoides por día, que lo hace muy sensible a estos daños. Otros factores que pueden estar relacionados con la degeneración testicular fueron los cambios de temperatura, especialmente asociados con la hipertermia y picos de parasitemia (Isoun y Anosa, 1974; Anosa e Isoun, 1980) y la obstrucción vascular, causada

por la formación de trombos de fibrina con la consecuente necrosis del tejido testicular (Anosa e Isoun, 1980). En el presente estudio, se observaron trombos de fibrina en los vasos testiculares y en el carnero 10 fue hallada una necrosis de los túbulos seminíferos presentándose una estasis espermática.

La picnosis y descamación del estrato celular medio de los túbulos hipoplásicos, coinciden con los resultados obtenidos por Anosa e Isoun (1980), en infecciones experimentales de pequeños rumiantes con *T. vivax*, quienes reportaron la presencia de una defoliación del epitelio germinal de los túbulos seminíferos en machos cabríos con presencia de células picnóticas o cariorréticas y de células gigantes.

Con respecto a la degeneración producto de los episodios de hipertermia, las espermatogonias fueron menos afectadas que los espermatozoides, siendo éstos más vulnerables. Estos resultados coinciden con los señalados por Anosa e Isoun (1980), en pequeños rumiantes infectados con *T. vivax* y con Anosa y Kaneko (1984) en ratones experimentalmente infectados con *T. brucei*.

El aumento del área intertubular, caracterizado por un moderado a alto grado de fibroplasia e infiltrado mononuclear (principalmente linfocitos, plasmocitos y macrófagos), fueron hallados en el grupo experimental, coincidiendo con lo reportado por Isoun y Anosa (1974) y Anosa e Isoun (1980), en ovinos y caprinos infectados con *T. vivax*; Ikede (1979), en ovinos infectados con *T. brucei*; Masake (1980) en bovinos infectados con *T. vivax* y por Ikede y Akpavie (1982), Anosa y Kaneko (1984) y Omeke y Onuora (1992), en roedores infectados con *T. brucei* y *T. congolense*.

En el presente estudio, el *T. vivax* tuvo una fuerte afinidad por el plasma y el lumen

de los vasos sanguíneos, pero no fue observado en el espacio intertubular. Este hallazgo coincide con lo reportado en carneros infectados con *T. vivax* (Isoun y Anosa, 1974; Anosa e Isoun, 1980); sin embargo, existen otros estudios donde los tripanosomas fueron observados en el tejido intersticial en asociación con células inflamatorias (Losos e Ikede, 1972; Masake, 1980).

Debido a la limitada distribución del *T. vivax* a nivel vascular, no está claro como la infección produce un extenso daño del epitelio germinal de los túbulos seminíferos en los animales infectados. Sin embargo, es posible que el daño del epitelio germinal observado en el presente trabajo, sea el resultado de la acción de toxinas liberadas localmente por el parásito, tales como: hemolisinas, factores inflamatorios y de permeabilidad, factores activadores del complemento, factores inmunosupresores y productos liberados por tripanosomas muertos, a pesar que tales determinaciones no se contemplaron en este estudio. Igualmente, la reacción inmunológica inducida durante la parasitemia pudiera contribuir a desarrollar una reacción de hipersensibilidad y daño celular (Igbokwe, 1994) que puede afectar negativamente la producción de espermatozoides. Finalmente, otro posible factor involucrado en el daño de la infección del tripanosoma desde el lecho vascular, es la presencia de trombos en estos vasos (producto de daño endotelial por parte del parásito), los cuales producen obstrucción y en consecuencia necrosis del tejido testicular (Isoun, 1975).

CONCLUSIONES

La infección experimental de *T. vivax* en carneros tropicales de pelo, produjo

disfunción de la actividad testicular, evidenciado por cambios en la calidad seminal, los cuales son el resultado de las alteraciones estructurales de los túbulos seminíferos y tejido intersticial. Cabe mencionar, que estos cambios pueden producirse en animales crónicamente infectados, los cuales pueden convertirse en portadores aparentemente normales, pudiéndose afectar la eficiencia reproductiva de los rebaños, sí estos animales son empleados como reproductores en los mismos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a los bachilleres Luis Morgado y Freddy Riera por su colaboración en la toma de datos, al laboratorio de histoquímica de la Cátedra de Histología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela, por el procesamiento de las muestras, al profesor Herakles García por la lectura del manuscrito y al Banco del Caribe-Banco Universal por el financiamiento parcial del presente estudio.

REFERENCIAS

Agu, W.E.; Ige, K.; Olatunde, G.S. 1986. Evaluation of semen quality of rams infected with *Trypanosoma vivax*. *Anim. Reprod. Sci.*, 11: 123-127.

Anosa, V.; Isoun, T. 1980. Further observation on the testicular pathology in *Trypanosoma vivax* infection of sheep and goats. *Res. Vet. Sci.*, 28: 151-160.

Anosa, V.; Kaneko, J.J. 1984. Pathogenesis of *Trypanosoma brucei* infection in deer mice (*Peromyscus maniculatus*) light and electron microscopic study of testicular lesions. *Vet. Pathol.*, 21: 238-246.

Barth, A.D. 1997. Evaluation of potential breeding soundness of the bull. En: *Current therapy in*

large animal theriogenology (Youngquist, R.S., eds). WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, USA, pp. 222-236.

Contreras, I.; Soto, H.; Gavidia, J.; Silva, L.; Bello, A. 2001. Efecto de la infección experimental de *Trypanosoma vivax* sobre el peso, condición corporal y algunas características reproductivas en carneros mestizos de la raza West African. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV.*, 42: 125-133.

De Stefano, H.; Bernardo, G.; Boada-Sucre, A.; Avellaneda, A.; Godoy, S.; Soto, H. 1999. Efecto de la infección con *Trypanosoma vivax* sobre la calidad espermática de toros Siboney. *Rev. Cient. Fac. Cs. Vét. LUZ.*, 9:411-417.

De Stefano, H.; Bernardo, G.; Soto, H.; Godoy, S. 2000. Efecto de la infección con *Trypanosoma vivax* sobre la producción de testosterona como respuesta a la estimulación con GnRH, en toros mestizos. *Rev. Cient. Fac. Cs. Vét. LUZ.*, 10:503-507.

González, N.; Espinosa, E. 1997. Relación entre la infección con *Trypanosoma vivax* y la eficiencia reproductiva en hembras bovinas a pastoreo con suplementación estratégica. *Vet. Trop.*, 22: 91-100.

González, N.; Espinosa, E.; Rangel, L. 1996. Efecto del *Trypanosoma vivax* sobre la gestación de vacas mestizas Holstein-Cebú inoculadas experimentalmente. *Vet. Trop.*, 21: 111-127.

Igbokwe, I.O. 1994. Mechanisms of cellular injury in african trypanosomiasis. *Vet. Bull.*, 7: 610-619.

Ikede, B. 1979. Genital lesions in experimental chronic *Trypanosoma brucei* infection in ram. *Res. Vet. Sci.*, 26: 145-51.

Ikede, B.O.; Akpavie, S.O. 1982. Delay in resolution of trypanosome-induced genital lesions in male rabbits infected with *Trypanosoma brucei* and treated with diaminazene aceturate. *Res. Vet. Sci.*, 32: 374-376.

Isoun, T.T. 1975. The histopathology of experimental disease produced in mice infected with *Trypanosoma vivax*. *Acta Trop.*, 32: 268-272.

Isoun, T.T.; Anosa, V.O. 1974. Lesions in the reproductive organs of sheep and goats experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, 25: 469-476.

- Losos, G.; Ikede, B. 1972. Review of pathology of diseases in domestic and laboratory animals caused by *T. congolense*, *T. vivax*, *T. brucei*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. *Vet. Pathol.*, 9 (Suppl): 6-21.
- Masake, R. 1980. The pathogenesis of infection with *Trypanosoma vivax* in goats and cattle. *Vet. Rec.*, 107: 551-557.
- Mavare, M. 2000. Efecto de la infección experimental de *Trypanosoma vivax* sobre parámetros clínicos hematológicos y niveles de progesterona en cabras. *Rev. Fac. Cs. Vet. UCV.*, 41: 63-64. (Abstr).
- Murray, M., Murruay, P.K. and McIntyre, W.I.M. 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71: 325-326.
- Mutayoba, B.M.; O'Shaughnessy, P.J.; Jeffcoate, I.A.; Eckersall, P.D.; Cestnik, V.; Holmes, P.H. 1997. Effect of experimental infection with *Trypanosoma congolense* and scrotal insulation on Leydig cell steroidogenesis in the ram. *Theriogenology*, 48: 411-422.
- Paris, J. Murray, M.; McOdimba, F. 1982. A comparative evaluation of the parasitological techniques currently available for the diagnosis of African trypanosomiasis in cattle. *Acta Trop.*, 39: 307-316.
- Omeke, B.K.C.; Onuora, G.I. 1992. Genital lesions and histopathology of male guinea pigs infected with tripanosomes. *Rev. Elev. Med. Vet. Pay. Trop.*, 45: 27-30.
- SAS, 1989. SAS User's guide: Statistics, SAS Inst Inc, Cary, NC.
- Sekoni, V.O. 1992a. Elevated sperm morphological abnormalities of Yankasa rams consequent to *Trypanosoma vivax* infection. *Anim. Rep. Sci.*, 31: 243-248.
- Sekoni, V.O. 1992b. Effect of *Trypanosoma vivax* infection on semen characteristic of Yankasa rams. *Br. Vet. J.*, 148: 501-506.
- Sekoni, V.O. 1994. Reproductive disorders caused by animal trypanosomiasis: a review. *Theriogenology*, 42: 557-570.
- Suárez, C. 2000. Evaluación de parámetros de la coagulación sanguínea en ovinos infectados experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. *Rev. Fac. Cs. Vet. UCV.*, 41:41-42. (Abstr).