

UNIVERSIDADE DE UBERABA  
RENATA CRISTINA DA CUNHA FRANGE

**TRIPANOSSOMÍASE EM VACAS DA MICRORREGIÃO DE UBERABA –  
MG: ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO E RELATO DE SURTO.**

UBERABA, MG  
2013

RENATA CRISTINA DA CUNHA FRANGE

TRIPANOSSOMÍASE EM VACAS DA MICRORREGIÃO DE UBERABA – MG:  
ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO E RELATO DE SURTO.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba.

Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar.

UBERABA, MG  
2013



**UNIVERSIDADE DE UBERABA**  
 Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão  
 Programa Acadêmico em Sanidade e Produção Animal nos  
 Trópicos



**Ata da Sessão Pública de defesa de dissertação para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, a que se submeteu o aluno Renata Cristina da Cunha Frange – matrícula 6102303/1, orientado pelo Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar.**

Aos vinte e um dias do mês de junho do ano de dois mil e treze, às 14 horas, na sala 2C05 da Universidade de Uberaba, reuniu-se a Comissão Julgadora da defesa em epígrafe indicada pelo o Colegiado do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba, composta pelos Professores Doutores: Joely Ferreira Figueiredo Bittar - **Presidente**, Eustáquio Resende Bittar e Marcelo Matos Santoro, para julgar o trabalho do candidata Renata Cristina da Cunha Frange, apresentado sob o título: **“Tripanossomiase em vacas da microrregião de Uberaba – MG: Estudo Soroepidemiológico e Relato de Surto”**. O Presidente declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros da Comissão Julgadora. A seguir o candidato dissertou sobre o seu trabalho e foi arguido pela Comissão Julgadora, tendo a todos respondidos às respectivas arguições. Terminada a exposição, a Comissão reuniu-se e deliberou pelo seguinte resultado:

- (  ) **APROVADO**  
 ( ) **REPROVADO** (anexar parecer circunstanciado elaborado pela Comissão Julgadora)

Para fazer jus ao título de MESTRE EM SANIDADE E PRODUÇÃO ANIMAL NOS TRÓPICOS, a versão final da tese, considerada aprovada devidamente conferida pela Secretaria do Mestrado em Sanidade e produção Animal nos Trópicos, deverá ser entregue à Secretaria dentro do prazo de 30 dias, a partir da data da defesa. O aluno Aprovado que não atender a esse prazo será considerado Reprovado. Após a entrega do exemplar definitivo, o resultado será homologado pela Universidade de Uberaba, conferindo título de validade nacional aos aprovados. Nada mais havendo a tratar, O Senhor Presidente declara a sessão encerrada, cujos trabalhos são objeto desta ata, lavrada por mim, que segue assinada pelos Senhores Membros da Comissão Julgadora, pelo Coordenador do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da UNIUBE, com ciência do aluno. Uberaba, ao vigésimo primeiro dia do mês de junho de dois mil e treze.

Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar \_\_\_\_\_

Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar \_\_\_\_\_

Profa. Dr. Marcelo Matos Santoro \_\_\_\_\_

Prof. Dr. André Belico de Vasconcelos \_\_\_\_\_  
 Subcoordenador do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da UNIUBE

Flávia Michele da Silva \_\_\_\_\_  
 Secretária do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da UNIUBE

Ciência do Aluno: RCCunha

AUTENTICAÇÃO	
UNIVERSIDADE DE UBERABA	Esta fotocópia confere com o original.
	Uberaba, 24/06/13
	 Flávia Michele da Silva Secretária dos Programas Stricto-Sensu Matrícula 12239

*Dedico este trabalho ao meu marido  
Frederico e aos meus filhos, Leonardo e Eduardo  
pelo amor incondicional, compreensão e apoio  
para mais esta conquista.*

## AGRADECIMENTO

Aos professores Eustáquio Resende Bittar e Joely Ferreira Figueiredo Bittar pela oportunidade de crescimento, aprendizado, realização profissional e pessoal, pela confiança em mim depositada e sem dúvida pela dedicação, compreensão, competência e sabedoria aplicadas ao longo deste trabalho.

Ao aluno de Iniciação Científica Marco Túlio Gomes Campos pela sua dedicação, esforço, colaboração e ajuda incansável.

À médica veterinária Paula Bassi pela ajuda e paciência ao longo deste processo.

Aos técnicos e funcionários do Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) pela colaboração para a conclusão deste trabalho.

Aos meus pais Iolanda e Guilherme pelo amor, colaboração e apoio. Vocês são exemplos de dedicação e honestidade. Obrigada por tudo!

As minhas amigas Dirce, Maria Teresa e Cláudia pelo apoio e incentivo sempre.

## RESUMO

*Trypanosoma vivax* gera prejuízos econômicos para a indústria pecuária como perdas na produção de leite, emagrecimento, febre, distúrbios neurológicos, aborto, repetição de cio, infertilidade, e morte dos animais infectados. Surtos da doença têm sido relatados em vários estados do Brasil, inclusive em Minas Gerais. A microrregião de Uberaba é um polo importante na criação, desenvolvimento genético e comercialização de gado. Nesse contexto, o presente trabalho objetivou realizar levantamento soropidemiológico e parasitológico da tripanossomíase na microrregião de Uberaba e descrever as características hematológicas e bioquímicas dos animais que apresentavam a doença clínica. Amostras de sangue e soro de 327 animais da microrregião de Uberaba e de 16 animais do surto ocorrido em Veríssimo-MG foram colhidas para avaliação parasitológica e sorológica, respectivamente. O estudo parasitológico foi realizado pela técnica de Woo e *Buffy Coat* e 100% das amostras do estudo epidemiológico eram negativas e 50% das amostras do surto apresentaram formas tripomastigotas de *T. vivax*. No estudo sorológico, realizado por imunofluorescência indireta, registrou-se prevalência de anticorpos anti- *T. vivax* em 16,2% e 100% das amostras da microrregião de Uberaba e do surto, respectivamente. A maior prevalência foi encontrada no município de Uberaba com 24,4%, seguida por Veríssimo com 17%, os demais municípios apresentaram prevalência inferior a 9%. A prevalência foi maior em propriedades destinadas a atividade leiteira (75%) e que não realizava a troca de agulhas na aplicação de vacinas e/ou medicamentos (80%). 87,5% dos animais do surto apresentaram anemia e hipocolesterolemia. 100% apresentaram hipoalbuminemia, diminuição de creatinina sérica e aumento de bilirrubina indireta. A prevalência da tripanossomíase em Uberaba-MG é baixa e medidas profiláticas devem ser implantadas na região para evitar a disseminação da enfermidade.

**Palavras-Chave:** *Trypanosoma vivax*, Bovino, Epidemiologia.

## ABSTRACT

*Trypanosoma vivax* causes economic loss for the livestock industry such as loss in milk production, weight loss, fever, neurological disorders, abortion, failure to conceive, infertility, and ultimately death of infected animals. There have been reports on the outbreaks of the disease in many Brazilian states, including in Minas Gerais. Uberaba's micro region is an important center for breeding, genetic development, and cattle business. This paper aims, based on this context, to perform serum and parasitological surveillance of trypanosomiasis in the micro region of Uberaba, and to describe the biochemical and hematological characteristics of the animals suffering from this clinical disease. Blood and serum samples of 327 animals from the micro region of Uberaba, and of 16 animals from the outbreak occurred in Veríssimo-MG, were collected for parasitological and serological evaluations, respectively. The parasitological study was performed via *Woo* and *Buffy Coat techniques*; 100% of the epidemiological samples were negative, and 50% of the outbreak samples showed trypomastigotes forms of *T. vivax*. In the serological study, performed via indirect immunofluorescence, it was recorded a prevalence of anti *T. vivax* antibodies in 16.2%, and 100% in the outbreak samples of the Uberaba's micro region, respectively. The highest prevalence was found in the municipality of Uberaba with 24.4%, followed by Veríssimo with 17%; the other counties presented a prevalence which was lower than 9%. The prevalence was higher in dairy farms (75%), and where needles were not changed when vaccines and/or medication were given (80%). 87.5% of the outbreak animals developed anemia and hypocholesterolemia; 100% developed hypoalbuminemia, a decrease in serum creatinine, and an increase in indirect bilirubin. The prevalence of trypanosomiasis in Uberaba – MG is low, and prophylactic measures must be implemented to prevent the spread of the disease.

**Key Words:** *Trypanosoma vivax*, Bovine, Epidemiology

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

<b>Figura 1</b>	Formas evolutivas do <i>Trypanosoma</i> .....	17
<b>Figura 2</b>	Morfologia e pontos utilizados na morfometria dos <i>Trypanosoma vivax</i> .....	17
<b>Figura 3</b>	<i>Glossina sp.</i> , conhecida como mosca tsé-tsé.....	19
<b>Figura 4</b>	Multiplicação na corrente circulatória de tripanosomas.....	20
<b>Figura 5</b>	Prevalência de <i>Trypanosoma vivax</i> no Brasil.....	25
<b>Figura 6</b>	Microrregião de Uberaba e municípios avaliados.....	34
<b>Figura 7</b>	Tipo de atividade realizada nas propriedades da microrregião de Uberaba-MG.....	41
<b>Figura 8</b>	Tipo de atividades desenvolvidas nas propriedades estudadas nos municípios da microrregião de Uberaba-MG.....	41
<b>Figura 9</b>	Forma de utilização das agulhas nas propriedades avaliadas da microrregião de Uberaba-MG.....	42
<b>Figura 10</b>	Forma de utilização das agulhas nas propriedades pertencentes aos municípios avaliados.....	43
<b>Figura 11</b>	Tripomastigota de <i>T. vivax</i> marcada com isotiocianato de fluoresceína em IFI (400x).....	44
<b>Figura 12</b>	Perfil de negatividade e positividade dos bovinos fêmeas pertencentes à microrregião de Uberaba-MG.....	44
<b>Figura 13</b>	Perfil de positividade e negatividade das propriedades da microrregião de Uberaba (A) e perfil epidemiológico das propriedades positivas em relação ao tipo de atividade (B) e procedimentos com agulhas (C).....	45
<b>Figura 14</b>	Prevalência da tripanossomíase bovina nos municípios da Microrregião de Uberaba-MG.....	46
<b>Figura 15</b>	Percentual de propriedades positivas para <i>T. vivax</i> nos municípios da microrregião de Uberaba-MG.....	46
<b>Figura 16</b>	Perfil das propriedades positivas para <i>T. vivax</i> em relação ao tipo de atividade desenvolvida.....	47
<b>Figura 17</b>	Perfil das propriedades positivas para <i>T. vivax</i> em relação ao procedimento com agulhas.....	48



<b>Figura 18</b>	Forma tripomastigota de <i>T. vivax</i> em esfregaço sanguíneo corado pelo Panótico Rápido® (aumento 1000x).....	48
<b>Figura 19</b>	Perfil dos títulos de anticorpos anti- <i>T. vivax</i> dos animais provenientes de uma propriedade do município de Veríssimo-MG.....	49
<b>Figura 20</b>	Percentual de animais anêmicos e não anêmicos durante o surto ocorrido em Veríssimo-MG.....	50
<b>Figura 21</b>	Tipo de anemia apresentada pelos animais do surto.....	51
<b>Figura 22</b>	Perfil leucocitário dos animais do surto. A: Leucócitos, B: Neutrófilos segmentados, C: Linfócitos e D: Monócitos.....	52
<b>Figura 23</b>	Perfil de Fibrinogênio nos animais do surto.....	53
<b>Figura 24</b>	Perfil de Plaquetas realizadas nos animais do surto.....	53
<b>Figura 25</b>	Perfil dos níveis séricos de ureia nos animais do surto.....	54
<b>Figura 26</b>	Perfil proteico dos animais do surto.....	55
<b>Figura 27</b>	Perfil hepático dos animais do surto sendo, A: gama GT e B: AST.....	56
<b>Figura 28</b>	Perfil sérico de bilirrubina total, direta e indireta.....	57
<b>Figura 29</b>	Perfil lipídico apresentado pelos animais do surto. A: colesterol e B: triglicérides.....	58
<b>Figura 30</b>	Perfil glicêmico dos animais do surto.....	58

**LISTA DE TABELA**

<b>Tabela 1</b>	Número de amostras de sangue colhidas de bovinos em relação a propriedades e municípios da microrregião de Uberaba-MG .....	40
-----------------	---	----

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

- IBGE** - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
- PCR** - Reação em Cadeia Polimerase.
- GSS** - Giemsa.
- WBF** - Esfregaços Sanguíneos Úmidos.
- SCM** - Método de Concentração de Strout.
- HCT** - Método do Microhematócrito ou Método de Woo.
- BCM** - Método "*Buffy Coat*".
- ELISA** - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*.
- DNA** - Ácido Desoxirribonucleico.
- IMA** - Instituto Mineiro de Agropecuária.
- EDTA** - Ácido Etilenodiamino Tetra-acético.
- HVU** - Hospital Veterinário de Uberaba.
- PBS** - Solução Tampão Fosfato Salino.
- pb** - Pares de Bases.
- VCM** - Volume Corpuscular Médio.
- CHCM** - **Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.**
- HCM** - **Hemoglobina Corpuscular Média.**
- AST** - Aspartato Aminotransferase
- RIFI** - Reação de Imunofluorescência Indireta.
- IFI** - Imunofluorescência Indireta.

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
2	<b>OBJETIVO</b> .....	15
3	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
3.1	TAXONOMIA .....	16
3.2	MORFOLOGIA .....	16
3.3	CICLO DE VIDA .....	18
3.4	TRANSMISSÃO .....	19
3.5	EPIDEMIOLOGIA .....	20
3.5.1	<b>África</b> .....	20
3.5.2	<b>Brasil</b> .....	21
3.5.2.1	<b>Região Nordeste</b> .....	21
3.5.2.2	<b>Região Centro Oeste</b> .....	22
3.5.2.3	<b>Região Norte</b> .....	23
3.5.2.4	<b>Região Sudeste</b> .....	23
3.5.2.5	<b>Região Sul</b> .....	24
3.6	PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS .....	25
3.7	ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS .....	27
3.8	MÉTODOS DE DIAGNOSTICO .....	28
3.9	TRATAMENTO E CONTROLE .....	31
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	33
4.1	ÁREA DE ESTUDO .....	33
4.1.1	<b>Estudo soropidemiológico</b> .....	33
4.1.1.1	<b>Cálculo</b> .....	34
4.1.2	<b>Surto</b> .....	35
4.2	COLETA DO SANGUE.....	36
4.3	PESQUISA PARASITOLÓGICA: MÉTODO DO MICROHEMATÓCRITO (WOO, 1970) E <i>BUFFY COAT</i> .....	36
4.3.1	<b>Método do microhematócrito (WOO, 1970)</b> .....	36
4.3.2	<i>Buffy Coat</i> .....	37
4.4	PESQUISA SOROLÓGICA: IFI.....	37
4.4.1	<b>Produção de antígeno de <i>T. vivax</i></b> .....	37
4.4.2	<b>Imunofluorescência indireta</b> .....	38
4.5	PESQUISA HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA .....	38
4.5.1	<b>Hematologia</b> .....	38
4.5.2	<b>Bioquímica</b> .....	39
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	39
5	<b>RESULTADOS</b> .....	40
5.1	ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO .....	40
5.1.1	<b>Caracterização da área de estudo</b> .....	40
5.1.2	<b>Estudo parasitológico</b> .....	43
5.1.3	<b>Estudo soropidemiológico</b> .....	43

5.2	<b>ESTUDO DO SURTO</b> .....	48
5.2.1	<b>Estudo parasitológico</b> .....	48
5.2.2	<b>Estudo sorológico</b> .....	49
5.2.3	<b>Perfil hematológico</b> .....	49
5.2.3.1	<b>Perfil eritrocitário</b> .....	49
5.2.3.2	<b>Perfil leucocitário</b> .....	51
5.2.3.3	<b>Fibrinogênio</b> .....	52
5.2.3.4	<b>Plaqueta</b> .....	53
5.2.4	<b>Perfil bioquímico dos animais do surto</b> .....	54
5.2.4.1	<b>Perfil renal</b> .....	54
5.2.4.2	<b>Perfil proteico</b> .....	54
5.2.4.3	<b>Perfil hepático</b> .....	55
5.2.4.4	<b>Perfil lipídico e glicêmico</b> .....	57
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	59
7	<b>CONCLUSÕES</b> .....	66
8	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	67

## 1 INTRODUÇÃO

A tripanossomíase bovina causada pelo protozoário *Trypanosoma vivax* (*T. vivax*), apresenta grande distribuição e graves consequências socioeconômicas no continente Africano principalmente nas áreas ocupadas pela mosca *tsé-tsé* (gênero *Glossina spp*) (ADAM et al., 2012 , BATISTA et al., 2008).

A *Glossina spp* é o único vetor ao qual o *T. vivax* é capaz de se multiplicar e permanecer na fase infecciosa durante toda a vida do inseto (OZÓRIO et. al., 2008), porém a sua adaptação a insetos hematófagos tais como *Tabanus spp* e *Stomoxys spp*, possibilitou a transmissão mecânica aos hospedeiros vertebrados, o que permitiu a propagação do *T. vivax* fora de seu local de origem, chegando assim à América Central, América do Sul e Caribe (SCHENK, et al., 2001, BATISTA et al., 2006, OZÓRIO et al., 2008), com gado importado da África provavelmente no final do século XIX (DABUS; CAMPOS; NEVES, 2011).

No Brasil o primeiro relato do *T. vivax* ocorreu nos anos 70 no Estado do Pará em búfalos (SCHENK, et al., 2001). Trabalhos publicados relatam a disseminação da doença por todo o Brasil com o aparecimento do parasita em bovinos leiteiros mestiços, Nelore e ovinos na região Nordeste (GUEDES JUNIOR et al., 2008, GALIZA et al., 2011, GUERRA, et al., 2008, BATISTA, et al., 2008, PIMENTEL, et al., 2012), bovinos da região Centro Oeste (SILVA et al., 1997), bovinos da raça Brahman na região Norte (LINHARES et al., 2006) e região Sudeste em bovinos da raça Holandesa e Girolando no Estados de São Paulo (CADIOLI, et al., 2012) e em bovino fêmea em Minas Gerais (CARVALHO et al., 2008).

A tripanossomíase gera cerca de três milhões de mortes anualmente nos países Africanos e países da América do Sul, levando a produção de gado perder cerca de 1,2 milhões de dólares anualmente (D'ARCHIVIO et al., 2011). Devido a estas grandes perdas econômicas o *T. vivax* representa grande interesse na pecuária (SILVA et al., 2004).

A doença pode ocasionar aos ruminantes infecções agudas e crônicas, as quais podem resultar em alterações hematológicas severas, perda de condição corporal, queda na produtividade (OZÓRIO et al., 2008, SILVA et al., 2009), abortos e alterações na reprodução. Sinais clínicos como leucopenia, lacrimejamento, anemia, perda de peso, fraqueza progressiva (SILVA et al., 2009), conjuntivite (GUERREIRO, 2005), febre,

letargia, produção de leite e carne, agalaxia, eventualmente morte (CARVALHO et al., 2008), repetições de cio, nascimentos de crias fracas e anestro temporário ou permanente podem ser observados (BEZERRA, et al. 2008).

Segundo Dabus, Campos e Neves (2011), as desordens reprodutivas geradas pela tripanossomíase nos machos se referem a perda de libido, retardamento da puberdade, má qualidade do sêmen, e nas fêmeas anestro temporário ou permanente e ciclos estrais anormais. Além disso, induz a morte fetal, distócica, abortamento, morte neonatal, e outros efeitos patogênicos no feto e no recém-nascido (SEKONI, 1994).

Considerando que o estado de Minas Gerais possui um rebanho bovino com 23 milhões de cabeças e destas 388.881 se encontram na microrregião de Uberaba composta pelos municípios de Água Comprida, Campo Florido, Conceição das Alagoas, Conquista, Delta e Veríssimo (IBGE, 2011) e que a microrregião é um polo importante na criação, desenvolvimento genético e comercialização de gado da raça zebu e que infestação por esse parasita poderia resultar em prejuízos significantes para o setor e para a região, o presente trabalho objetivou realizar um levantamento soroepidemiológico da tripanossomíase na microrregião de Uberaba e descrever as características hematológicas e bioquímicas dos animais com doença clínica.

## **2 OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL:**

- Realizar levantamento epidemiológico, sorológico e parasitológico da tripanossomíase na microrregião de Uberaba-MG.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Correlacionar à presença de *T. vivax* com o tipo de atividade rural e manejo sanitário das propriedades;
- Correlacionar a soronegatividade para *T. vivax* com o aparecimento de casos clínicos da doença;
- Descrever os aspectos parasitológicos, sorológicos, hematológicos e bioquímicos de animais com sinais clínicos da doença.



### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 TAXONOMIA

Tripanossomíases são doenças provocadas por espécies do gênero *Trypanosoma*, pertencem ao filo *Euglenozoa* pertencente à classe *Mastigophora*, ordem *Kinetoplastia*, subordem *Trypanosomatina* (WOLKMER et al., 2007), família *Trypanosomatidae*, gênero *Trypanosoma* na seção salivaria (CARNEIRO, 2011, MONTEIRO, 2011).

A seção Salivaria inclui *Trypanosomas* africanos transmitidos por moscas *tsé-tsé*, pertencentes ao gênero *Glossina*, através da saliva contendo o parasita. As principais espécies pertencentes a esse grupo são: *T. vivax*, *T. congolense*, *T. brucei* e *T. suis* (STEPHEN, 1986). *T. brucei rhodesiense* e o *T. brucei gambiense*, causam a doença do sono no homem na África oriental e ocidental, respectivamente (MYLER, 1993). Outras espécies como o *T. vivax*, *T. evansi*, *T. congolense* e *T. brucei* causam enfermidades nos animais domésticos (SILVA et al., 2002, PAIVA, 2009).

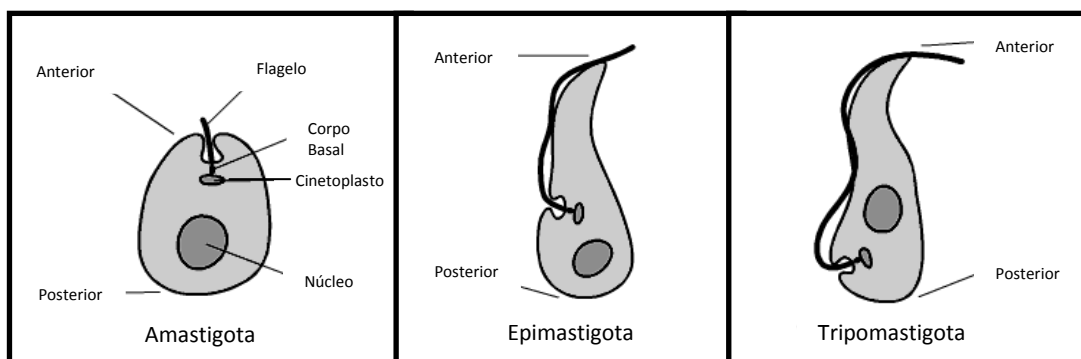
A seção salivaria se divide em quatro subgêneros: *Dutonella*, *Pycnomonas*, *Nannomonas*, *Trypanozoon*, sendo a espécie *Trypanosoma vivax* pertencente ao subgênero *Dutonella* (SILVA et al., 2002).

A subordem *Trypanosomatina* contém uma única família, *Trypanosomatidae*, a qual contém oito gêneros (*Trypanosoma*, *Leishmania*, *Endotrypanum*, *Crithidia*, *Blastocrithidia*, *Leptomonas*, *Herpetomonas*, *Phytomonas*) (SILVA et al., 2002).

#### 3.2 MORFOLOGIA

*T. vivax* é monomórfico, variando de 20 a 27 $\mu$ m de comprimento, no Brasil a média encontrada é de 18,73  $\mu$ m no Pantanal e Mato Grosso do Sul, já no Estado do Pará foi de 22,77 $\mu$ m (GUERREIRO, 2005).

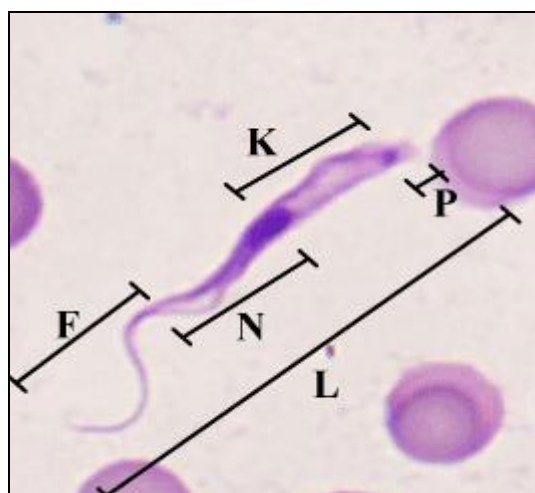
Uma das características marcantes deste protozoário são suas formas (amastigota, tripomastigota e epimastigota) (FIGURA 1) (DABUS; CAMPOS; NEVES, 2011). Nas cepas africanas encontra-se *T. vivax* nas formas tripomastigotas e epimastigotas tetracíclicas, já na América do Sul, devido a não presença do ciclo no vetor o *T. vivax* é encontrado apenas na forma tripomastigota (GUERREIRO, 2005).



**Figura1-** Formas evolutivas do *Trypanosoma*.

**Fonte:** [http:// vet.blogspot.com.br/2013/02/tripanosossomose.html](http://vet.blogspot.com.br/2013/02/tripanosossomose.html) - Acesso em 09/03/2013.

O gênero *Trypanosoma* apresenta como principais organelas o núcleo, o cinetoplasto e o sistema mastigonte representado pelo corpo basal e o flagelo (FIGURA 2) (SILVA et al., 2002). O cinetoplasto do parasito apresenta características marcantes, sendo este, grande, redondo, volumoso, de posição terminal e de valor diagnóstico (GUERREIRO, 2005).



**Figura 2-** Morfologia e pontos utilizados na morfometria dos *Trypanosoma vivax* observados em esfregaços sanguíneos de bovino naturalmente infectado durante fase crônica, Igarapé – MG, 2007, onde: L: comprimento do parasita; F: flagelo; N: distância do núcleo até o flagelo; P: cinetoplasto; K: distância do cinetoplasto ao núcleo.

**Fonte:** Carvalho et al., 2008.

A forma tripomastigota apresenta forma de foice, achatado, núcleo grande e central (cora-se em roxo), cinetoplasto grande (cora-se em roxo) e extremidade posterior mais arredondada, já a forma amastigota possui forma arredondada ou ovalada, flagelo não visível (é reduzido no interior do corpúsculo) (CARNEIRO, 2011; MONTEIRO, 2011). A membrana ondulante é inconspícua e observa-se um curto flagelo. As tripomastigotas metacíclicas podem ser encontradas no hospedeiro intermediário, já as formas tripomastigotas e amastigotas são encontradas no hospedeiro definitivo (SILVA et al., 2002).

A extremidade pela qual parasita avança durante a locomoção é descrita como anterior, enquanto que a posterior varia na forma, sendo geralmente mais larga, afinando mais abruptamente ou terminando em uma forma rombuda ou ainda apresentando a ponta arredondada (SILVA et al., 2002).

### 3.3 CICLO DE VIDA

O ciclo vital do parasita *Trypanosoma* envolve dois hospedeiros, um o hospedeiro final que é o animal vertebrado (mamífero) e o hospedeiro intermediário a mosca *tsé-tsé* pertencente ao gênero *Glossina*, que é responsável em transmitir a infecção para novos hospedeiros vertebrados (SILVA, et al., 2002).

O ciclo biológico se inicia após a ingestão do *T. vivax* em sua forma metacíclica pela mosca *tsé-tsé* durante a hematofagia e fica restrita a região da proboscítea da mosca, podendo haver uma invasão no intestino médio, onde o parasita não sobrevive por longo tempo. O *Tripanosoma* se adere à parede interna da proboscítea pela região flagelar e se diferencia em epimastigota, perdendo a capa de glicoproteínas superficiais. Após intensa multiplicação da forma epimastigota, *T. vivax* adquire nova capa de glicoproteína superficial, diferenciando-se em tripomastigota metacíclica. A maturação do *Tripanosoma* está relacionada com a modulação da superfície de revestimento por glicoproteínas e perda de adesão flagelar das formas epimastigotas (GUERREIRO, 2005).

Após 24 horas as formas epimastigotas transformam-se novamente em pequenas formas tripomastigotas, sendo estas as formas infectantes para o próximo hospedeiro sendo denominadas tripomastigotas metacíclicas (GUERREIRO, 2005).

Nos hospedeiros mamíferos, as formas tripomastigotas metacíclicas de tripanosomatídeos trocam novamente a capa de superfície, diferenciando-se em tripomastigotas sanguíneos. Estas formas se multiplicam na corrente sanguínea por divisão binária, não havendo estágios de evolução intracelular (GARDINER, 1989).

### 3.4 TRANSMISSÃO

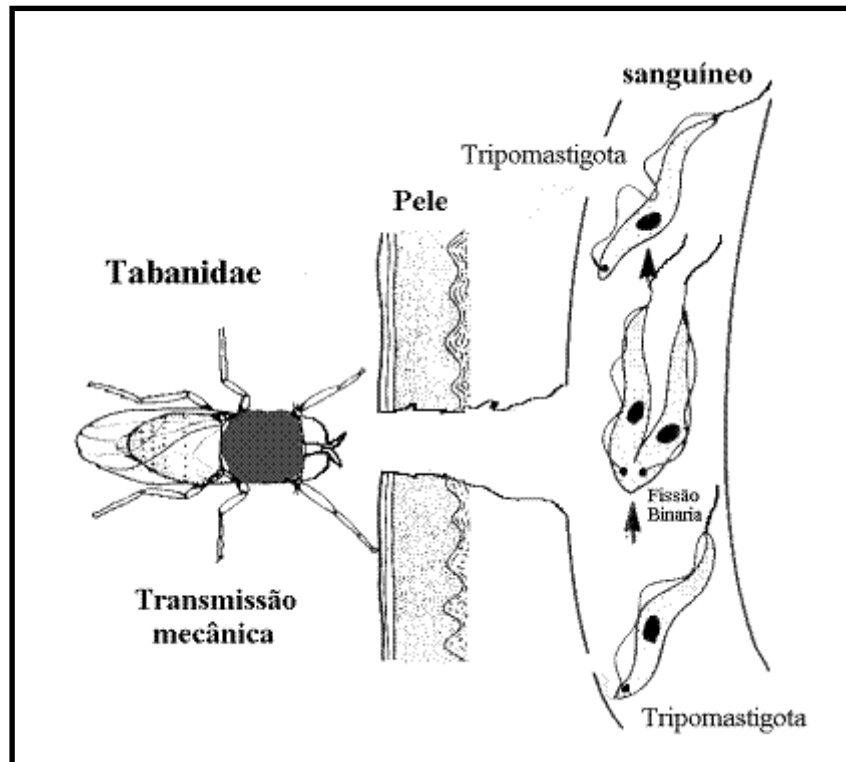
A transmissão do *T. vivax* pode ocorrer de duas formas: cíclica por meio da mosca *tsé-tsé* (FIGURA 3), de maneira mecânica ou não cíclica através de insetos hematófagos ou tabanídeos ou ainda por modo iatrogênico através da utilização de uma agulha por vários animais durante a aplicação de medicamentos ou vacinações (VARGAS, ARELLANO, 1997; JONES, DÁVILA, 2001). No continente africano a transmissão ocorre predominantemente de maneira cíclica pela mosca *tsé-tsé*, podendo também ocorrer de maneira mecânica (GUERREIRO, 2005; PAIVA, 2009).



**Figura 3** - *Glossina sp.*, conhecida como mosca *tsé-tsé*.  
**Fonte:** CICCO, 2011

A forma mecânica de transmissão pode ser observada em regiões onde a mosca *tsé-tsé* não está presente. A disseminação do *T. vivax* se dá através de peças bucais das

moscas como as *Tabanidae*, *Stomoxidinae* e *Hippoboscidae* quando essas se alimentam em mais de um hospedeiro, normalmente a alimentação ocorre em curto intervalo de tempo (FIGURA 4) (PAIVA, 2009).



**Figura 4** - Multiplicação de *Trypanosoma vivax* na corrente circulatória.  
**Fonte:** SILVA et al., 2002.

### 3.5 EPIDEMIOLOGIA

#### 3.5.1 África

A tripanossomíase provocada por *T. vivax* tem larga distribuição na África, principalmente em áreas ocupadas pela mosca *tsé-tsé*, no entanto, o parasita se encontra em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (LEVINE, 1973). No continente Africano, mais precisamente em uma área endêmica no planalto oriental da Zâmbia entre os meses de abril de 2004 a dezembro de 2005 estudou-se o risco da

tripanosomíase bovina e observou-se positividade de 4,5% para *T. vivax* e 3,2% para infecções mistas de *T. vivax* e *T. congolense* (SIMUKOKO et al., 2011).

*T. vivax* acomete principalmente ungulados incluindo bovinos, ovinos, caprinos, equinos, camelos várias espécies de antílopes selvagens e búfalo africano (GARDINER, 1989). Algumas raças de ruminantes domésticos são relativamente resistentes à tripanossomíase por apresentar resistência natural à infecção e permanecerem na condição de portadores assintomáticos, fenômeno denominado de tripanotolerância (MATTIOLI, WILSON, 1996).

A ampla distribuição geográfica do *T. vivax* fora do seu local de origem, o continente africano, é atribuída a sua habilidade de adaptação à transmissão mecânica por insetos hematófagos tais como tabanídeos e *Stomoxys spp* (ANOSA, KANEKO, 1983; CORDOVES et al., 1982; OTTE, ABUABARA, 1991).

O estabelecimento do *T. vivax* no continente americano ocorreu no século XIX devido à importação pelos colonizadores portugueses e espanhóis de espécies domésticas e gados do Senegal em 1830 para a Guiana Francesa e Ilhas de Martinica e Guadalupe (PAIVA et al., 2000).

### 3.5.2 Brasil

No Brasil, foi diagnosticado em búfalos no Estado do Pará nos anos 70. Até então o parasita ficou restrito ao Norte do Brasil, e posteriormente se propagou para várias regiões do Brasil.

#### 3.5.2.1 Região Nordeste

Vila de Colombo, município de Itapecuru-Mirim, Estado do Maranhão, em julho de 2003, relatou-se o primeiro caso de *T. vivax*. Em esfregaço sanguíneo realizado em 20 animais, um apresentou tripomastigotas do parasita, vindo a óbito após alguns dias (GUERRA, et al., 2008).

Em julho de 2005, no Estado da Paraíba, município de São José, uma propriedade com 36 bovinos leiteiros mestiços, 14 apresentaram queda na produtividade

do leite e sinais clínicos. Em Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) realizada nos 36 animais, 15 apresentaram-se positivos para *T. vivax* (BATISTA, et al., 2008).

Município de Catolé do Rocha, no estado da Paraíba, foi acometido por surto de tripanossomíase ocasionada pelo *T. vivax* no período de maio a agosto de 2002. No total 49% (64/130) dos animais foram afetados, sendo que destes 17% (11/64) morreram (BATISTA, et al., 2007).

Tripanossomíase em ovinos também foi relatada no Estado da Paraíba Município de São João do Rio do Peixe acometendo um rebanho de 306 ovelhas, sendo que 78,4% apresentaram sinais clínicos e 70,5% morreram. O *T. vivax* foi identificado nos animais por análise de PCR (GALIZA et al., 2011).

No Estado de Pernambuco, Município de Itambé na Paraíba, em Março de 2010 relatou-se pela primeira vez a ocorrência de *T. vivax* em bovinos. Do total de 80 animais de produção leiteira desta fazenda, 22,5% (22) apresentaram sintoma da tripanossomíase, destes, foram colhidas amostras de sangue e realizado a técnica de PCR onde 100% dos animais apresentara-se positivos para *Trypanosoma sp.* (PIMENTEL, et al., 2012).

### 3.5.2.2 Região Centro Oeste

Infestação por *T. vivax* também foi registrada na sub-região do Pantanal de Poconé em julho de 1995, onde foram analisadas 29 amostras de sangue de bovinos por esfregaço sanguíneo em *Buffy Coat*”, o resultado apresentou que do total 34,48% apresentavam infecção por *T. vivax* (SILVA et al., 1997). Outros surtos no Pantanal se sucederam com quadros clínicos severos (OSÓRIO, et al., 2008).

No Pantanal dos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, a epidemiologia do *T. vivax*, esta diretamente associada aos períodos de seca e inundação do Pantanal. Nos três a cinco meses de enchente que ocorre anualmente, há uma redução da área de pastagem e conseqüentemente aumento da densidade animal por área. Esses fatores provocam problemas nutricionais tornando os animais mais susceptíveis à tripanossomíase, decorrente da infecção de *T. vivax* transmitida principalmente por tabanídeos que nesse período tem a população aumentada (BARROS, FOIL, 1999) ou por recidiva da infecção em animais portadores depauperados, pois o hemoprotozoário é

um organismo oportunista. A maior incidência do *T. vivax* em animais do pantanal nesse período foi demonstrada por Dávila et al. (2003).

Nos sistemas de produção dos estados de Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, concentra-se a fase de cria e recria de bovinos e a fase de engorda, estas são efetuadas no planalto desses estados ou em fazendas de engorda de outros estados como Goiás, São Paulo e Paraná. Conseqüentemente há deslocamento de bovinos portadores do Pantanal para outras áreas. (MADRUGA, 2006).

### 3.5.2.3 Região Norte

Na região Nordeste do Estado do Pará dois municípios apresentaram grande infestação por *T. vivax*. O município de Castanhal apresentou resultado positivo em 83% (n=65) do rebanho bovino da raça Nelore, já no município de São Miguel Guamá 96,7% (n=181) de bovinos leiteiros mestiços apresentaram positividade (GUEDES Junior et al., 2008).

No estado do Tocantins, município de Formoso, o primeiro relato de *T. vivax* ocorreu em bovinos provenientes do Estado de São Paulo após seis meses de permanência na nova propriedade rural. Dos 250 bovinos do rebanho da raça Brahman, nove apresentaram sinais clínicos, destes, três apresentaram por meio de esfregaços sanguíneos, tripomastigotas de *T. vivax*. De acordo com os autores a ocorrência deste surto pode ser entendida pela movimentação de rebanhos de áreas livres de infestação para áreas onde a presença do parasita está confirmada (LINHARES et al., 2006).

### 3.5.2.4 Região Sudeste

O primeiro relato de *T. vivax* no estado de Minas Gerais aconteceu em 2007 no município de Igarapé, onde um bovino fêmea proveniente de uma propriedade rural apresentando sinal clínico submeteu-se a exames clínicos onde foi constatado formas tripomastigotas de *T. vivax* (CARVALHO et al., 2008).

Sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor de leite somando 27,9% do total produzido no país, este rebanho leiteiro tem alto valor genético, gerando desta



forma a necessidade de dados precisos sobre a infecção de *T. vivax* no estado (CUGLOVICI, et al., 2010).

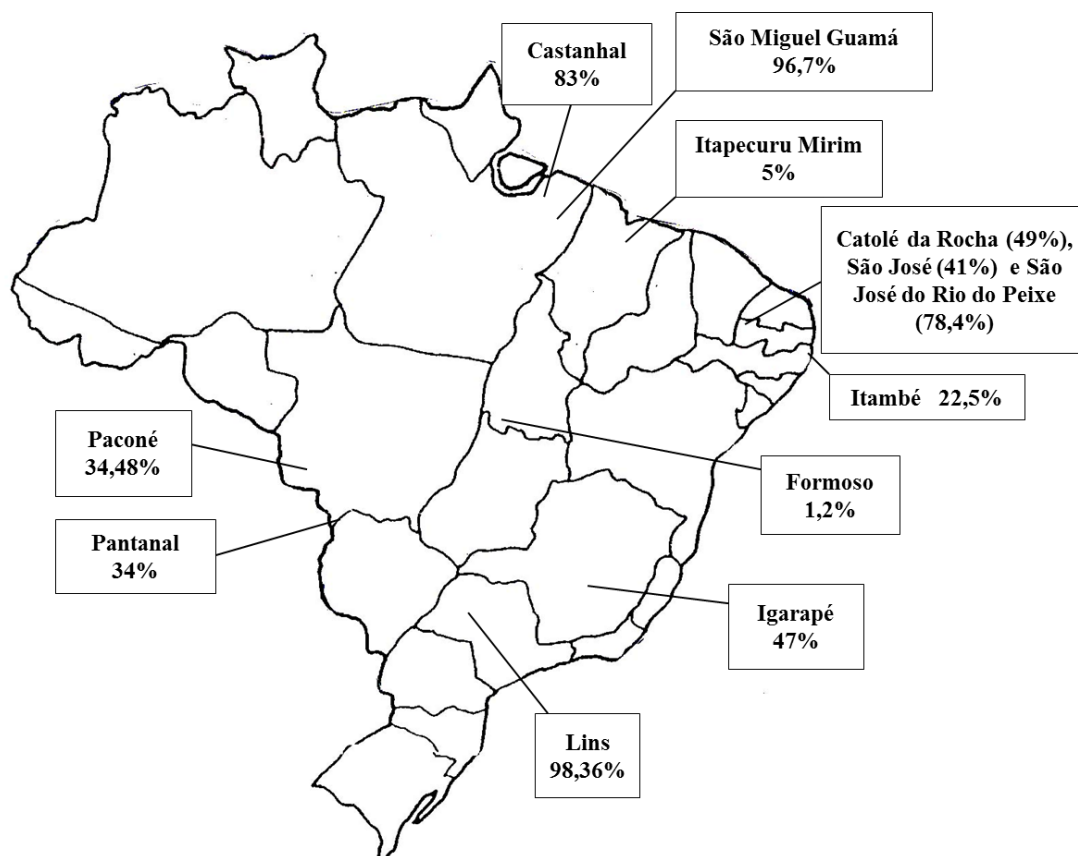
Durante setembro de 2007 a fevereiro de 2009 no Município de Igarapé-MG foram analisados por meio de análise parasitológica, PCR e imunofluorescência indireta a presença de *T. vivax* em vacas mestiças, Gir, Girolando e Holandes. Exames realizados comprovaram a existência do parasita, em 100% das coletas. Em setembro de 2007, 7,4% (4/54) foram soropositivos, em fevereiro de 2008 a soro positividade aumentou para 27,7% (18/65), em junho de 2008 outro aumento foi verificado chegando a 38,2% (29/76), já em agosto de 2008, 36% (27/75) das análises foram positivas para *T. vivax*, em outubro de 2008, o maior índice de positividade até agora registrado 45,3% (34/75) e em fevereiro de 2009 o índice de animais soropositivos alcançou 47% (24/51) (CUGLOVICI, et al., 2010).

No Estado de São Paulo observou-se pela primeira vez casos de infecção por *T. vivax* em vacas leiteiras na cidade de Lins. Do total de 1080 bovino da raça Girolando e Holandesa, 98,36% das amostras de soro apresentaram-se IgG-anti *T. vivax* e 31 foram a óbito. O hemoparasita foi observado em esfregaços sanguíneos e a espécie foi diagnosticada como *T. vivax* por PCR (CADIOLI, et al., 2012).

#### 3.5.2.5 Região Sul

Estado do Rio Grande do Sul, município de São Pedro diagnosticou-se a presença de *T. vivax* em um bovino fêmea sem raça definida, no quinto mês de gestação apresentando sinais clínicos. O parasita foi diagnosticado por meio de esfregaço sanguíneo e confirmado pela técnica de PCR (SILVA et al., 2009).

A Figura 5 apresenta os municípios brasileiros onde foram registrados casos por *T. vivax* e a soroprevalência.



**Figura 5-** Prevalência de *Trypanosoma vivax* no Brasil.

### 3.6 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

A patogenia da tripanossomíase por *T. vivax* é fortemente influenciada por fatores inerentes ao hospedeiro, como susceptibilidade do animal, e também por fatores inerentes ao parasita, como virulência da cepa (ANOSA, KANEKO, 1983). Os animais acometidos podem apresentar sinais clínicos variados. A doença pode ser caracterizar em aguda, subaguda e crônica.

A tripanossomíase causada pelo *T. vivax* geralmente se caracteriza pela presença constante do parasita no sangue e febre intermitente (OZÓRIO et al., 2008). Nos estágios iniciais da infecção uma anemia hemolítica pode ser desencadeada pelo agente, sendo esta atribuída a mecanismos imunomediadores (SCHENK, et al., 2001).

A doença pode ocasionar aos ruminantes infecções agudas e crônicas, as quais podem resultar em alterações hematológicas severas, perda de condição corporal, queda na produtividade podendo levar a mortalidade dos animais (OZÓRIO et al., 2008, SILVA et al., 2009).

Todavia, pode haver uma variação do efeito em relação ao hospedeiro da infecção causada pelo *T. vivax*, ocasionando um equilíbrio com o parasito que por um longo período mantem-se clinicamente normal (SCHENK, et al., 2001).

Mesmo na África o *T. vivax* apresenta diferenças em suas manifestações clínicas, enquanto na costa leste do continente as populações do agente apresentam um quadro crônico, na costa oeste às formas são agudas, o que mostra variações quanto aos aspectos patogênicos do parasita (PAIVA et al., 2000). Já na América do Sul a maioria das infecções causadas por *T. vivax* são crônicas e assintomáticas, com raros surtos de gravidade da doença (ADAMS, et al., 2009).

Algumas raças de bovinos apresentam-se resistentes ao *T. vivax* no continente africano, isto é conhecido como tripanotolerância, tendo origem genética e ambiental, e podendo variar em relação às condições de estresse, idade, infecções intercorrentes, estado nutricional e cepas envolvidas (SCHENK, et al., 2001).

A tripanotolerância é um atributo genético que se refere à capacidade de tolerar os efeitos contra a infecção do tripanossoma, seja pela capacidade em suportar seus efeitos ou responder de forma positiva ao tratamento (DESTA, AYALEW, HEGDE, 2012).

Na Etiópia, há relatos de caso onde se observou que a raça Sheko taurina apresentou-se tripanotolerante a tripanossomíase. Esta tripanotolerância pode ser confirmada a partir da sobrevivência deste rebanho no Sudoeste da Etiópia, cinturão da mosca *tsé-tsé* (DESTA, AYALEW, HEGDE, 2012).

No Brasil nas regiões, Norte e Nordeste a doença geralmente é assintomática, no entanto alterações nervosas e hematológicas podem levar bovinos, ovinos e caprinos infectados por *T. vivax* a morte, além de abortos e alterações na reprodução (SILVA et al., 2009), já outras espécies como cães, suínos e equídeos são refratárias à infecção por este parasita (PAIVA et al., 2000).

Sinais clínicos como aborto (GALIZA et al., 2011, OZÓRIO et al., 2008, SILVA et al., 2009, MADRUGA et al., 2006), agalaxia, perda da visão, queda na fertilidade, produção de leite e carne (CARVALHO et al., 2008), anemia (GALIZA et al., 2011, SILVA et al., 1996, MADRUGA et al., 2006), anorexia (BATISTA et al.,

2008, GALIZA et al.,2011), apatia, emagrecimento, palidez (LINHARES et al., 2006), desidratação, leucopenia, fraqueza progressiva (SILVA et al., 2009), diarreia, nascimento de bezerros fracos com morte perinatal (OZÓRIO et al., 2008), edema (SILVA et al., 1996), febre (BATISTA et al., 2008, SILVA et al., 1996, MADRUGA et al., 2006, CARVALHO et al., 2008), letargia (GALIZA et al., 2011, CARVALHO et al., 2008), pelos arrepiados (GALIZA et al., 2011) e perda de peso (BATISTA et al., 2008, GALIZA et al.,2011, SILVA et al., 1996, SILVA et al., 2009) foram relatados em trabalhos.

Segundo Bezerra, et al. (2008), desordens reprodutivas como o aborto, repetições de cio, nascimentos de crias fracas e anestro temporário ou permanente são as alterações relatadas mais frequentes em fêmeas bovinas infectadas de modo natural pelo parasita *T. vivax*.

Patologias reprodutivas ocasionadas por *T. vivax* em machos estão ligadas especialmente a lesões de testículos e epidídimo. Em casos crônicos estão presentes infertilidade e até esterilidade (BEZERRA, et al., 2008).

### 3.7 ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

*T. vivax* desenvolve as etapas de seu ciclo biológico no sangue circulante, pois segundo Anosa, Kaneko (1983), é o local onde ele encontra todos os elementos necessários a sua função vital, mesmo já tendo evidenciado sua capacidade de migrar para os tecidos no hospedeiro vertebrado.

O parasita pode provocar diferentes graus de alterações no quadro hematológico, entre as quais observa-se a diminuição da contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito (PAIVA, 2009).

Em estudo hematológico realizado em bovinos infectados por *T. vivax* no alto sertão da Paraíba, Batista et al. (2008) evidenciaram animais com acentuada queda na contagem de hemácias, hematócrito e teores de hemoglobina, e anemia intensa.

A anemia é o parâmetro hematológico mais comumente associado à tripanossomíase por *T. vivax* (PAIVA, 2009). Sendo sua causa considerada multifatorial e atribuída à hemólise intra e extra vascular, diminuição ou inibição da eritropoiese e hemorragias (BATISTA et al., 2008).

Maxie, Losos e Tabel (1979), constataram em bovinos infectados experimentalmente por *T. vivax* e *T. congolense* o desenvolvimento de anemia macrocítica hipocrômica, entretanto Saror (1979) e Rhaymah, Al-Badrani (2012) observaram anemia do tipo normocítica normocrômica com tendência a se tornar macrocítica normocrômica.

Segundo Olubayo e Mugerá (1985) o consumo de plaquetas provocadas pelo *T. vivax*, induz a formação de microtrombos causando trombocitopenia, a qual promove desordens hemostáticas.

Quanto aos valores bioquímicos, a alteração nos níveis plasmáticos de glicose tem sido mencionada como um importante sinal clínico laboratorial em animais infectados por *T. vivax* (PAIVA et al., 2009).

Van Dam et al. (1997) e Versteegen et al. (1991), observaram que cabras infectadas por *T. vivax* apresentavam redução dos níveis séricos de glicose e aumento dos níveis de ácidos graxos livres no plasma devido ao aumento de substrato energético para suprimir o balanço energético negativo.

Diminuição nos níveis de albumina e de proteínas totais também foram observada em animais infectados por *T. vivax* (KATUNGA, WAKISHAYA, 1996).

### 3.8 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Segundo Silva, et al. (2002) os principais métodos diagnósticos para *T. vivax* podem ser divididos em três: parasitológico, sorológico e moleculares.

Dentre os métodos de diagnóstico parasitológico, podemos encontrar a técnica do esfregaço sanguíneo, o método do “aspirado” do linfonodo, Microhematócrito, *Buffy Coat* e inoculação em camundongos (SILVA et al., 2002).

O esfregaço sanguíneo é uma técnica de detecção parasitológica onde uma gota de sangue do animal a ser examinado é colocada em uma das extremidades da lâmina e com outra lâmina, denominada extensora, faz-se um ângulo de 45° ao nível da gota de sangue e distribuir o conteúdo sobre a primeira lâmina (SILVA et al., 2002).

O método do “aspirado” consiste em localizar o linfonodo pré-escapular, injetar uma solução fisiológica e após isso retirar a mistura solução fisiológica e sangue para a preparação de um esfregaço sanguíneo grosso que deverá ser fixado em álcool metílico e corado com Giemsa (SILVA et al., 2002).

A técnica do Microhematócrito descrita por WOO (1970) consiste em preencher aproximadamente 2/3 do volume de um capilar com o sangue a ser testado (é recomendável montar dois capilares por cada amostra de sangue), selar com chama ou com plastilina uma das extremidades e centrifugar para a realização da leitura. Para o *Buffy Coat* pode se montar uma lâmina, quebrando cada capilar na parte onde se divide a parte líquida com a parte celular, colocando assim uma ou duas gotas deste material numa lâmina e fazendo logo o esfregaço (SILVA et al., 2002).

Segundo Cuclovici et al. (2010) no início de surto ocorrido no município de Igarapé-MG, em 2007, 3,7% dos bovinos foram positivos para *T. vivax*, já em 2008 a positividade foi de 23,1% dos animais, sendo os animais avaliados pelo método do microhematócrito.

A inoculação em camundongo se faz geralmente por via intraperitoneal, mas também pode ser feita por via intramuscular. O inoculo de sangue infectado é de aproximadamente 0,20 ml. Os camundongos mais usados são os de linhagem Swiss (suíços) e Balb/C (SILVA et al., 2002).

Segundo Silva et al. (2002), o método da inoculação em camundongo dá uma sensibilidade de 88,2%, método do microhematócrito ou método de Woo 71,1%, método *Buffy Coat* 63,4%, esfregaços sanguíneos úmidos 53,8%, método de concentração de Strout 46,1% e esfregaços corados pelo Giemsa 45,6%. Segundo os mesmos autores os métodos HCT, inoculação em camundongo e esfregaço corados com o Giemsa foram propostos como a combinação mais efetiva.

Os métodos diagnósticos sorológicos mais comumente utilizados no Brasil para detectar infecções por *T. vivax* são a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (SILVA et al., 2002).

Nos testes de imunofluorescência são empregados conjugados constituídos de anticorpos ou antígenos ligados covalentemente a moléculas reveladoras denominadas fluorocromos. Estes são moléculas que absorvem luz em comprimento de onda baixo e elevada energia e emitem luz em comprimento de onda maior, de menos energia, fenômeno conhecido como fluorescência. O fluorocromo usualmente empregado nestes testes são o isotiocinato de fluoresceína, lisamina-rodamina B e ficoeritrina (VAZ, TAKEI, BUENO, 2007).

Os testes de imunofluorescência podem ser classificados de acordo com o componente marcado (antígeno ou anticorpo), pelo método (competitivo ou não-

competitivo), por serem homogêneos ou heterogêneos, ou ainda pela realização em fase sólida ou líquida (VAZ, TAKEI, BUENO, 2007).

A imunofluorescência indireta utiliza um anticorpo anti-imunoglobulina marcado com fluorocromo para a detecção de anticorpos que se fixaram em antígenos celulares ou particulados. A especificidade do conjugado permite identificar diferentes classes de anticorpos nas amostras, como anti-IgG ou anti-IgA (VAZ, TAKEI, BUENO, 2007).

O teste de imunofluorescência direta é caracterizado pela detecção do antígeno diretamente em células ou tecidos, intracelular ou de membrana, utilizando um anticorpo específico marcado com fluorocromo. Para este teste há a necessidade de um conjugado para cada antígeno que se deseja identificar ou localizar (VAZ, TAKEI, BUENO, 2007).

Segundo Cuclovici et al. (2010), de 51 bovinos avaliados pelo método de imunofluorescência indireta 47% apresentaram positividade para título 80.

O ELISA é baseado no uso de antígenos brutos obtidos a partir do sangue de roedores experimentalmente infectados ou de culturas de tecidos (REBESKI et al., 1999). Ocorrem reações cruzadas, pois antígenos brutos dos tripanosomas têm especificidade limitada ao subgênero (MAGONA et al., 2003). Além disso, Lejon et al. (2003), em seu experimento, verificaram que a utilização do ELISA na detecção de anticorpos contra *T. vivax* em caprinos falhou na identificação dos animais infectados.

Segundo Madruga et al. (2006) uma das vantagens da utilização do ELISA em estudos sorológicos na América do Sul é a ausência de espécies de tripanosomas que induzam resposta imune que gere fortes reações cruzadas com os antígenos crus de *T. vivax*, fato este que ocorre na África com *T. congolense*.

Em surto registrado no município de Lins-SP, Cadioli et al. (2012) observou 98,36% das amostras de soros colhidas de bovinos apresentaram IgG anti-*T. vivax*, no teste por ELISA.

Dentre os métodos de detecção molecular o mais utilizado é a PCR, este método da biologia molecular é utilizado para a amplificação de fragmentos específicos de Ácido Desoxirribonucléico (DNA) (SILVA et al., 2002).

A técnica do PCR usando as sequências espécie-específicas para o diagnóstico de *T. vivax* (TVW1, TVW2) desenvolvida por Masiga, McNamara e Gibson (1992) oferece maior sensibilidade que os métodos parasitológicos, mas o mesmo não mostra maior sensibilidade que o parasitológico quando usado diretamente em soros de bovinos (DESQUESNES, 1997). Na América do Sul estes iniciadores têm sido apenas testados

na Guiana Francesa e testes preliminares foram feitos no Instituto de Medicina Tropical de Antuérpia, Bélgica usando algumas amostras do Brasil e da Bolívia.

Sabendo que a demonstração do parasita no sangue de animais infectados é o único método de diagnóstico seguro, e que os métodos parasitológicos não funcionam bem com parasitemias baixas, novos métodos de diagnóstico com maior sensibilidade e especificidade têm sido desenvolvidos por diferentes grupos de pesquisa. Masake et al. (1997) desenvolveram um novo par de iniciadores para diagnóstico (ILO1264, ILO1265) que se anelam a uma região genômica do *T. vivax* que codifica um antígeno, e segundo os autores identificariam um maior número de genótipos de *T. vivax* de diferentes regiões.

Segundo Ventura et al. (2001), os primers direcionados ao diagnóstico molecular de *T. vivax* amplificam um produto de 210pb (pares de bases), sendo que as amostras que amplificam um produto menor que 210pb não são positivas para *T. vivax*.

O teste da reação em cadeia pela polimerase bem como outros ensaios moleculares para o diagnóstico do *T. vivax*, se encontram em fase de implementação no Brasil. Masiga, McNamara e Gibson (1992) desenvolveram iniciadores espécie-específicos baseados no DNA satélite para a identificação de *T. simiae*, três subgrupos de *T. congolense*, *T. brucei* e *T. vivax*, nas moscas *tsé-tsé*. Outros ensaios moleculares para a detecção do *T. vivax* usando sondas de DNA têm sido desenvolvidos (DICKIN, GIBSON, 1989; NYEKO et al., 1990). Porém, o método do PCR usando iniciadores: espécie ou gêneros específicos e iniciadores aleatórios constitui uma potente ferramenta de diagnóstico, contribuindo significativamente no diagnóstico e identificação de tripanosomas africanos, respectivamente. (MAJIWA et al., 1993).

### 3.9 TRATAMENTO E CONTROLE

Durante décadas vários métodos de controle, tais como desmatamento, uso de machos estéreis e armadilhas impregnadas com inseticidas para o controle dos vetores, pulverização de inseticidas nos animais, na vegetação, uso de inseticidas *pour on* e quimioprofilaxia foram testados na África. Porém, atualmente, apenas a quimioprofilaxia e o controle dos vetores com drogas *pour on* e armadilhas impregnadas com inseticidas continuam sendo usadas (SILVA, et al., 2004). Contudo, cada enfermidade pode ser controlada efetivamente com ambos agentes



quimioterapêuticos ou quimioproláticos, bem como o controle dos artrópodes vetores (PEREGRINE, 1994).

O tratamento quimioterápico desta enfermidade em bovinos ocorre com a associação de fármacos homidium, isometamidium e dimenazene (SILVA et al., 2004). Devido ao fato do princípio ativo se manter nos tecidos por um período prolongado, algumas drogas de efeito curativo também apresentam ação profilática (PAIVA et al., 2009).

Locais onde a transmissão ocorre de forma cíclica (continente africano) a profilaxia consiste na ruptura da cadeia de transmissão glossina-animal-*Trypanosoma*, podendo utilizar como medidas de controle o uso de raças tripanotolerantes, drogas com fins profiláticos e curativos, desmatamento da vegetação, remoção de habitats do vetor e controle biológico do vetor (PAIVA et al., 2009).

Nas áreas de transmissão mecânica, onde não há a presença da mosca *tsé-tsé*, o método de controle deve ser realizado por meio de um tratamento precoce, uma vez que a parasitemia é mais alta nos períodos iniciais da doença. Devido à resistência as drogas utilizadas para esta finalidade, a administração deve ser restrita apenas aos animais parasitados (PAIVA et al., 2009).

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

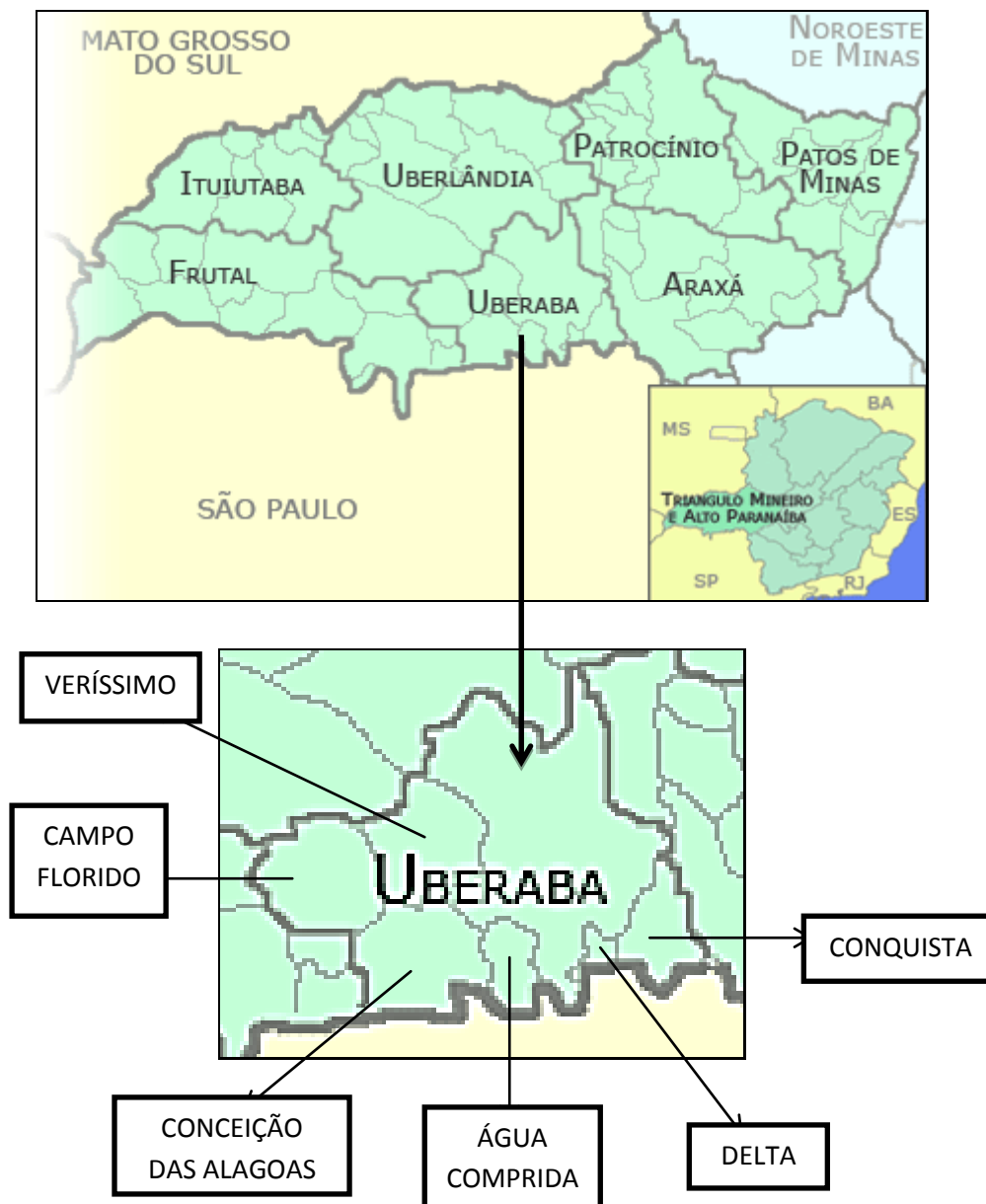
### **4.1 ÁREA DE ESTUDO**

#### **4.1.1 Estudo Soroepidemiológico**

O estudo foi conduzido durante o período de setembro/2011 a outubro/2011 na microrregião de Uberaba-MG, que se localiza entre a latitude Sul 19° 45' 27" e longitude Oeste 47° 55' 36". Essa microrregião apresenta altitude máxima de 1.031 m e mínima de 522 m, ocupando uma área física total de 4.540,51 km<sup>2</sup>, dos quais apenas 256 km<sup>2</sup> são ocupados pelo perímetro urbano.

Segundo o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) a microrregião de Uberaba, possui 4820 animais a qual é composta pelas cidades de Uberaba, Conceição das Alagoas, Delta, Conquista, Campo Florido, Veríssimo e Água Comprida (FIGURA 6).

O clima nesta região, segundo a classificação de Köeppen, é do tipo Aw (clima tropical com estação seca de inverno) quente úmido, com inverno frio (15/16°C) e seco. As médias anuais de precipitação e temperatura são de 1.474 mm e 22,6°C, respectivamente.



**Figura 6** – Microrregião de Uberaba e municípios avaliados.

#### 4.1.1.1 Cálculo

O número de amostras foi determinado conforme orientação metodológica do Centro Pan-Americano de Zoonoses (CEPANZO, 1979) nos procedimentos adotados para o estudo de prevalência de enfermidades crônicas. Estimou-se em 48% a soroprevalência do *T. vivax* na população a ser estudada, tendo como base o trabalho de Cuglovici et. al. (2010). Admitiu-se a margem de erro de 20% e depositou-se nesse

resultado um grau de confiança de 95%. Para o cálculo da amostragem, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$N = P \cdot (100 - P) \cdot g^2 / (e \cdot P / 100)^2$$

Onde:

N = número de amostras a serem utilizadas

$g^2$  = fator determinante do grau de confiança (  $1,96^2 = 3,84$  )

P = prevalência estimada (48,0%)

e = margem de erro admissível ( 20,00% )

Assim,

$$N = 48 \cdot (100 - 48) \cdot 3,84 / (20 \cdot 48 / 100)^2$$

$$N = 104 \text{ amostras}$$

O número mínimo para o estudo seria de 104 amostras, mas foram analisadas 327 amostras de 36 propriedades da microrregião de Uberaba-MG em parceria com o Instituto Mineiro de Agropecuária, o qual se responsabilizou pela escolha das propriedades e o número de amostras coletadas em cada uma delas. As amostras foram colhidas em bovinos fêmeas mestiças, híginas, com idade superior a 24 meses.

Nessas propriedades foram obtidos dados referentes ao tipo de criação e troca ou não de agulhas.

#### 4.1.2 Surto

Em maio de 2012, 16 animais de uma propriedade do município de Veríssimo-MG, localizada na microrregião de Uberaba-MG, apresentaram sinais clínicos característicos de *T. vivax* como apatia, debilidade, fraqueza, decúbito lateral e ingestão de terra. Amostras de sangue foram colhidas para avaliação parasitológica, hematológica, bioquímica e sorológica.

## 4.2 COLETA DO SANGUE

De cada animal foram colhidos 10 ml de sangue por venopunção da jugular utilizando-se agulhas 25 x 0,8 mm em tubos tipo vacutainer contendo anticoagulante (EDTA) e sem anticoagulante. As amostras foram devidamente identificadas e encaminhadas aos Laboratórios de Medicina Veterinária Preventiva e de Patologia Clínica do Hospital Veterinário de Uberaba - HVU (UNIUBE /FAZU/ABCZ) em caixas de isopor com gelo.

As amostras de sangue com anticoagulante foram utilizadas para o diagnóstico parasitológico pela técnica da centrifugação em tubo capilar (WOO, 1970) e confecção de lâminas de esfregaço sanguíneo corado com Panótico Rápido<sup>®</sup>.

As amostras sem anticoagulante foram centrifugadas em velocidade de 1000 g durante 15 minutos para obtenção dos soros que foram transferidos e acondicionados em tubos tipo eppendorf de 2,5 ml, devidamente identificados e mantidos na temperatura de -20°C até a realização da imunofluorescência indireta. Os soros obtidos dos animais da área de surto foram utilizados também para a avaliação bioquímica.

## 4.3 PESQUISA PARASITOLÓGICA: MÉTODO DO MICROHEMATÓCRITO (WOO, 1970) E *BUFFY COAT*

### 4.3.1 Método do microhematócrito (WOO, 1970)

Para cada amostra sanguínea, dois tubos de microhematócrito foram preenchidos em aproximadamente 2/3 do seu volume total. A extremidade posterior ao sangue foi selada com chama e posteriormente os tubos foram centrifugados a 12000rpm por 5 minutos. A leitura para observação das formas de tripomastigota foi realizada em microscópio óptico (40x) na interface entre a papa leucocitária e o plasma.

### 4.3.2 *Buffy Coat*

Os tubos de microhematócrito foram quebrados entre o plasma e a papa leucocitária (*Buffy coat*) e esfregaços sanguíneos foram confeccionados, corados pelo Kit Panótico Rápido<sup>®</sup> e examinados em microscópio ótico com objetiva de imersão (1000x) (HOARE, 1972).

## 4.4 PESQUISA SOROLÓGICA: IFI

### 4.4.1 Produção de antígeno de *T. vivax*

Um ovino macho, sem raça definida, com idade superior a quatro meses e previamente esplenectomizado foi inoculado por via intramuscular e subcutânea com quatro mL da amostra de *T. vivax* criopreservada contendo aproximadamente  $2 \times 10^6$  parasitos/mL (conforme princípios éticos da experimentação animal, adotados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEE/UNIUBE), protocolo nº 035/2012). O animal foi mantido no Hospital Veterinário de Uberaba, alimentados com silagem de milho *ad libitum* e acompanhados diariamente, no período matutino e vespertino, por aferição da temperatura retal, volume globular e pesquisa parasitológica (sangue fresco em lâmina/lamínula, técnica de WOO e *Buffy Coat*).

No pico de parasitemia ( $2 \times 10^7$  tripanosomas/ mL de sangue) 100 mL de sangue foram colhidos em tubos vacutainer contendo EDTA. A obtenção dos parasitas foi realizada conforme protocolo descrito por Cuglovici et al., (2010) com modificações. O sangue foi então misturado com igual proporção da solução de Percoll (Sigma<sup>®</sup>) e centrifugado a 17.500g por 20 minutos a 4°C. A banda de parasitos formada próxima ao topo do gradiente foi colhida e ressuspensa em Solução Tampão Fosfato Salina (PBS) (PBS de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 40 mM pH 7,5 e NaCl 150 mM) na proporção de 1:3. Após nova centrifugação, a 6000g, por 15 min. a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o sedimento lavado duas vezes com PBS 6000g/ 15 min. a 4°C para eliminar resíduos de Percoll. Os tripanosomas parcialmente purificados foram distribuídos em lâminas de vidro previamente demarcadas. Após secarem ao ar, as lâminas foram fixadas em acetona

resfriada por 5 min., secas ao ar e embrulhadas em lenços de papel, envoltas por papel alumínio e conservadas a -20°C até o momento de uso.

#### 4.4.2 Imunofluorescência indireta

O teste de fluorescência para detectar anticorpos anti-*T. vivax* foi realizado conforme metodologia descrita por Cuglovici et al., (2010).

No momento da reação, as lâminas contendo o antígeno de *T. vivax* foram retiradas do freezer e secas a 37°C por cinco minutos. Os soros foram diluídos e distribuídos nas lâminas contendo o antígeno e incubadas por 30 minutos à 37°C. Em seguida foram realizadas três imersões durante cinco minutos cada uma delas em PBS pH 7,2 (Fosfato de sódio monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 0,256%, Fosfato de sódio dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 1,178%, NaCl 8,76%, Água destilada qsp 100mL) e posteriormente secagem à temperatura ambiente. Foi adicionado o conjugado anti-IgG de bovino marcado com Isotiocianato de Fluoresceína (Sigma<sup>®</sup>) na diluição recomendada pelo fabricante (1:200) em azul de Evans (1:50 em PBS Tween 20) e incubada por mais 30 minutos em estufa a 37°C. Realizaram-se novamente três imersões de cinco minutos em PBS e secagem em temperatura ambiente. Posteriormente, as lâminas foram cobertas com glicerina tamponada e lamínulas. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de epifluorescência (Nikon Eclipse E200<sup>®</sup>), em aumento de 400X. Foram consideradas positivas as reações com fluorescência com títulos  $\geq 1:80$  (GARCÍA et al., 2006).

Soros de bovinos infectados experimentalmente e não infectados com *T. vivax* foram utilizados como controles positivos e negativos respectivamente na diluição 1:80.

### 4.5 PESQUISA HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA

#### 4.5.1 Hematologia

Os dados eritrocitários (hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e

hemoglobina corpuscular média (HCM), plaquetários e leucocitários (leucócitos totais) foram obtidos utilizando equipamento automatizado ABC Vet<sup>®</sup> e a leucometria diferencial (neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos) em esfregaço sanguíneo corado pelo método Panótico Rápido<sup>®</sup>. Os dados de fibrinogênio foram obtidos através da leitura de proteína plasmática realizada em refratômetro Biobrix 301<sup>®</sup>.

#### 4.5.2 Bioquímica

As amostras de soro foram avaliadas quanto ao perfil renal (ureia e creatinina), perfil proteico (albuminas e proteínas totais), perfil hepático (gama GT e Aspartato Aminotransferase (AST), bilirrubina total, bilirrubina indireta e bilirrubina direta), perfil lipídico (colesterol e triglicérides) e glicose. As análises foram realizadas em equipamento automatizado Selectra II<sup>®</sup> com kits Bio Técnica<sup>®</sup> e Reflotron<sup>®</sup>.

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados do inquérito epidemiológico foram tabulados e submetidos à análise estatística pelo teste do Qui-quadrado, com nível de significância de 5% ( $p$  menor que 0,05). A força de associação foi obtida por meio do cálculo do Odds Ratio (OR) com intervalo de confiança de 95% (IC95%).

Os dados do surto foram submetidos à análise estatística descritiva, calculando-se a média e o desvio padrão.

As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Statistica 8.0 (Statsoft, Tulsa, OK, 2008).



## 5. RESULTADOS

### 5.1 ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO

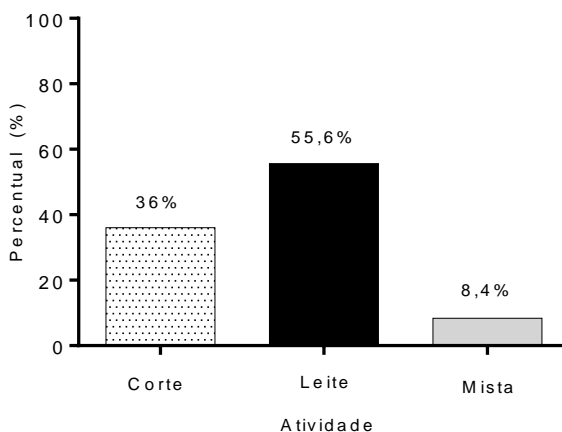
#### 5.1.1 Caracterização da área de estudo

O número de propriedade e de amostras de animais colhidas por municípios está apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1:** Número de amostras de sangue colhidas de bovinos em relação a propriedades e municípios da microrregião de Uberaba-MG.

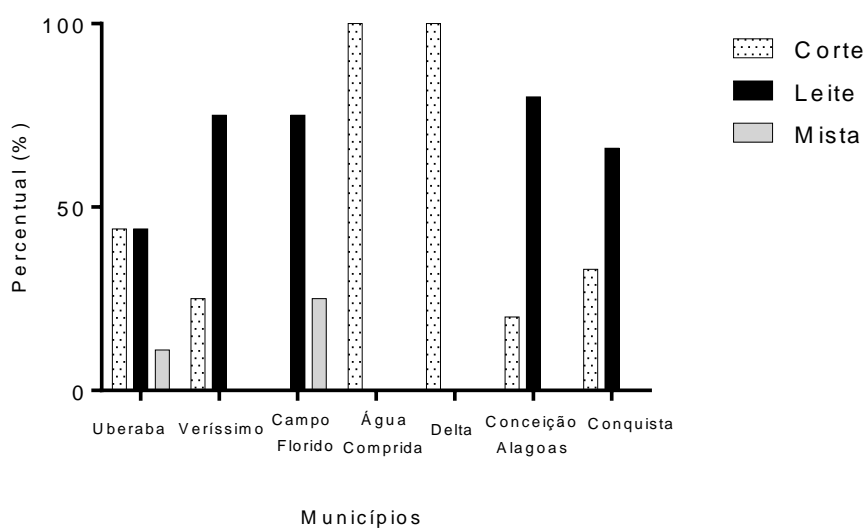
Municípios	Propriedades		Amostras	
	Número	Percentual	Número	Percentual
<b>Uberaba</b>	18	50	164	50,15
<b>Veríssimo</b>	4	11,11	35	10,70
<b>Água Comprida</b>	1	2,77	4	1,22
<b>Delta</b>	1	2,77	15	4,59
<b>Conceição das Alagoas</b>	5	13,88	30	9,17
<b>Conquista</b>	3	8,33	34	10,40
<b>Campo Florido</b>	4	11,11	45	13,76
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>100</b>	<b>327</b>	<b>100</b>

Em relação ao tipo de atividade realizada (corte, leite ou mista), das 36 propriedades trabalhadas 13 (36%) apresentavam atividade de corte, 20 (55,6%) de leite e três (8,4%) mista (FIGURA 7).



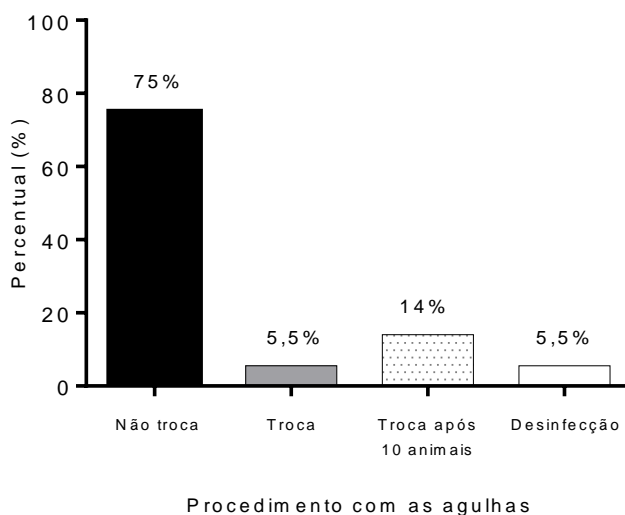
**Figura 7** - Tipo de atividade realizada nas propriedades da microrregião de Uberaba-MG.

Das 18 propriedades de Uberaba oito (44,4%) desenvolviam atividade de corte, oito de leite (44,4%) e duas (11,25%) atividade mista. Em Veríssimo, uma (25%) era destinada a corte e três a produção leiteira (75%) e em Conceição das Alagoas quatro (80%) possuíam atividade leiteira e uma (20%) de corte. 100% das propriedades de Delta e Água Comprida eram destinadas a atividade de corte. Em Conquista uma propriedade (33%) possuía atividade de corte e duas (66,7%) atividade leiteira e em Campo Florido três (75%) eram destinadas a leite e uma (25%) a produção mista. A distribuição das propriedades em relação ao tipo de atividade está apresentada na Figura 8.



**Figura 8** - Tipo de atividades desenvolvidas nas propriedades estudadas nos municípios da microrregião de Uberaba-MG.

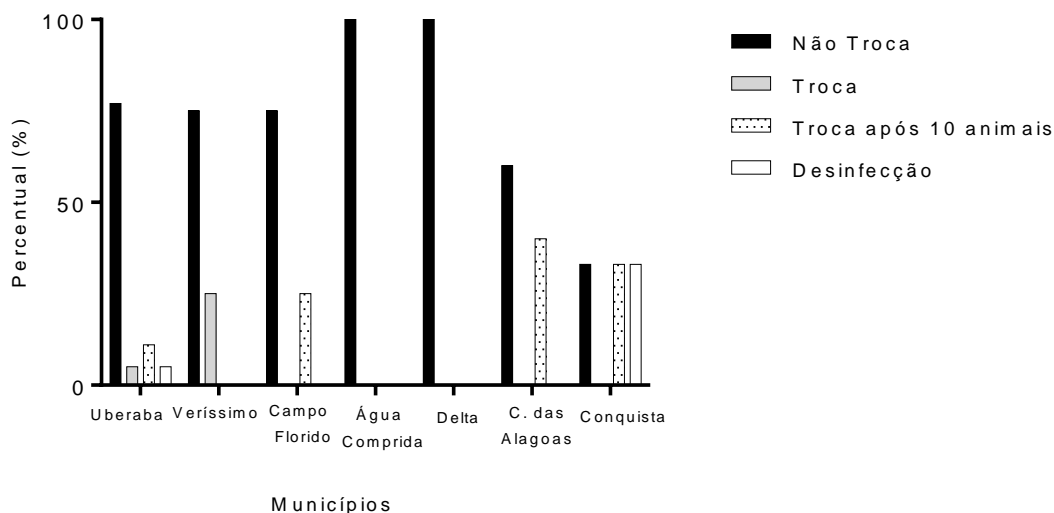
Analisando a forma de aplicação de medicamentos e vacinas, das 36 propriedades estudadas, 75% (27) não realizam a troca de agulha, 5,5% (2) realizam a troca a cada aplicação, 14% (05) trocam a agulha após a aplicação em 10 animais, 5,5% (02) realizam a desinfecção da agulha (FIGURA 9).



**Figura 9** - Forma de utilização das agulhas nas propriedades avaliadas da microrregião de Uberaba-MG.

Nas 18 propriedades de Uberaba, 77,8% (14) não realizam a troca da agulha, 11,2% (02) trocam após a aplicação em dez animais, 5,5% (01) troca a cada aplicação, e 5,5% (01) apenas realiza a desinfecção. Em Veríssimo 75% (03) não trocam as agulhas e 25% (01) trocam a agulha a cada aplicação.

Em Conceição das Alagoas 40% (02) trocam as agulhas a cada dez animais e 60% (03) não trocam as agulhas. Nas propriedades de Campo Florido 75% (03) não realizam a troca de agulhas e 25% (01) trocam após a aplicação no décimo animal. Em Conquista 33,3% (01) não trocam as agulhas, 33,3% (01) trocam as agulhas após a décima aplicação e 33,3% (01) realiza apenas a desinfecção. Nas propriedades de Água Comprida e Delta 100% não trocam as agulhas (FIGURA 10).



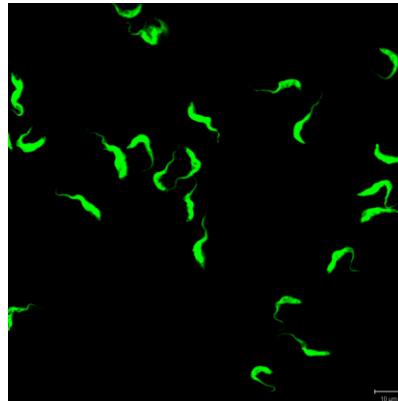
**Figura 10-** Forma de utilização das agulhas nas propriedades pertencentes aos municípios avaliados.

### 5.1.2 Estudo parasitológico

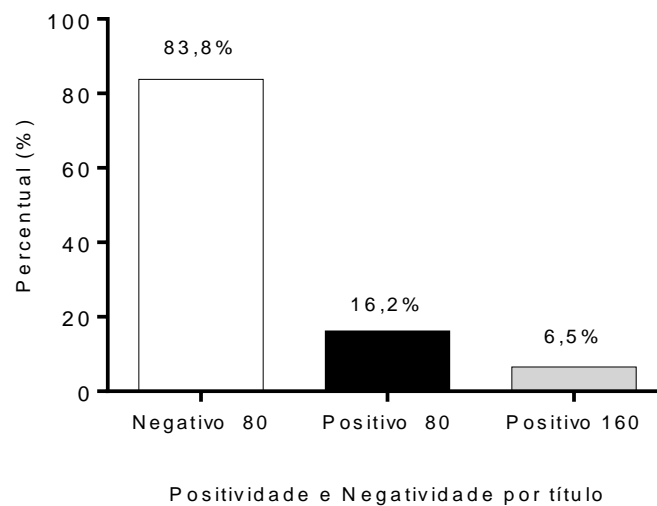
Durante o período experimental, das 327 amostras analisadas do estudo epidemiológico pelo teste de Woo e *Buffy Coat* nenhuma apresentou formas de tripomastigotas de *T. vivax*.

### 5.1.3 Estudo soroepidemiológico

Considerando o ponto de corte 80, das 327 amostras coletadas dos animais pertencentes a 36 propriedades da microrregião de Uberaba, 83,8% (274) eram negativas enquanto 16,2% (53) eram positivas, ou seja, apresentavam anticorpos anti *T. vivax* (FIGURAS 11, 12), e somente 6,5% dos animais positivos apresentaram anticorpos anti *T. vivax* até a diluição 1:160.



**Figura 11** - Tripomastigota de *T. vivax* marcada com isotiocianato de fluoresceína em IFI (400x).

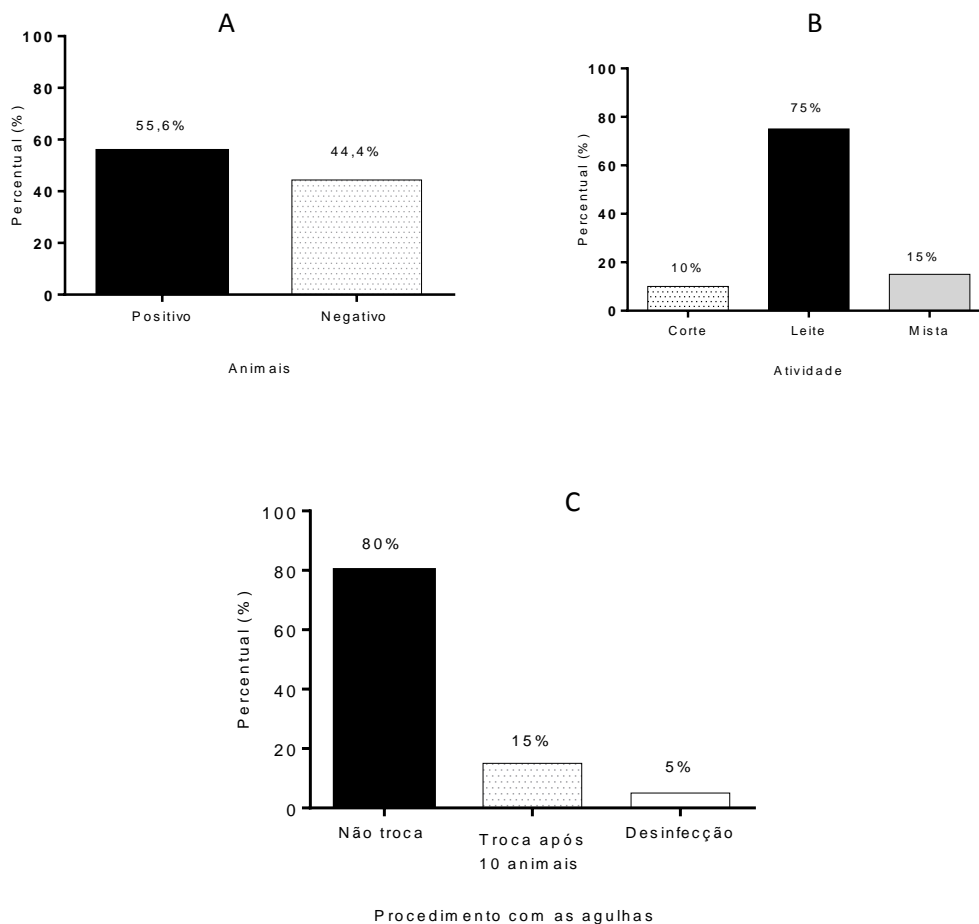


**Figura 12** – Perfil de negatividade e positividade dos bovinos fêmeas pertencentes à microrregião de Uberaba-MG.

Das 36 propriedades 20 (55,6%) apresentavam no mínimo um animal positivo para *T. vivax*. Destas, 15 (75%) desenvolviam atividade leiteira, duas (10%) de corte e três (15%) mista. Observou-se diferença estatística significativa entre as propriedades que desenvolviam atividade leiteira em relação à positividade para *T. vivax* ( $P < 0,05$ )

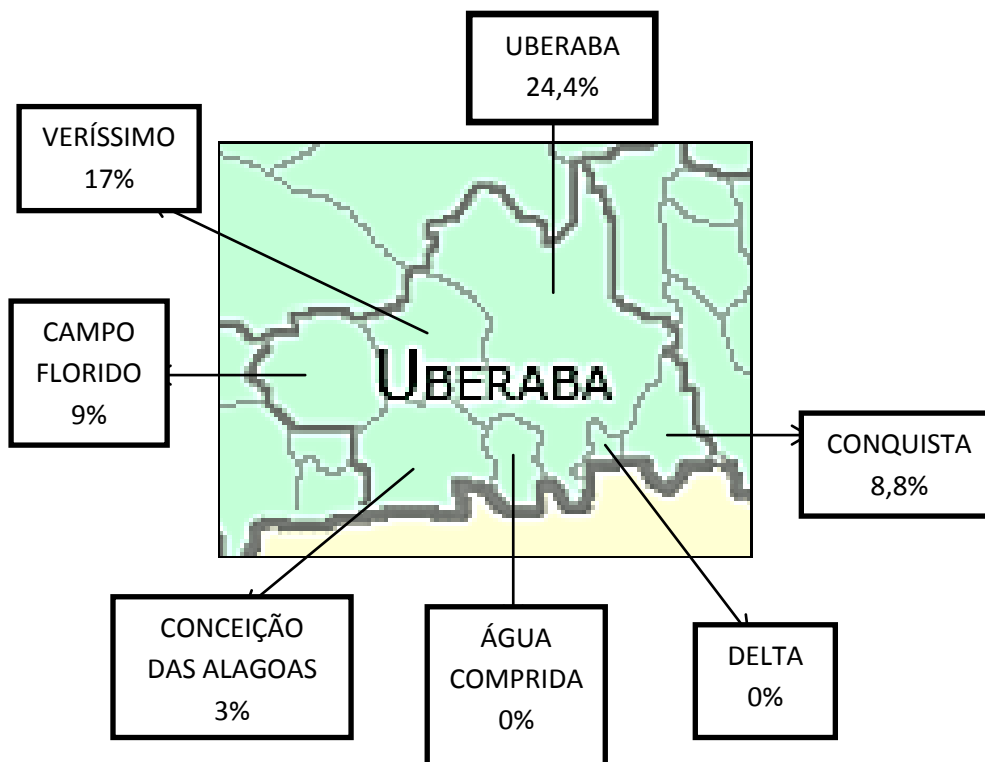
Em relação aos procedimentos realizados com as agulhas utilizadas na vacinação ou aplicação de medicamentos, notou-se que nas propriedades positivas 16 (80%) não trocavam as agulhas, três (15%) trocavam a cada 10 animais e uma (5%) realizava a desinfecção (FIGURA 13). A positividade de *T. vivax* nos animais pertencentes a

propriedades que não trocavam agulhas foi estatisticamente superior em relação as que realizavam outros tipos de manejo com as agulhas ( $P < 0,05$ ).



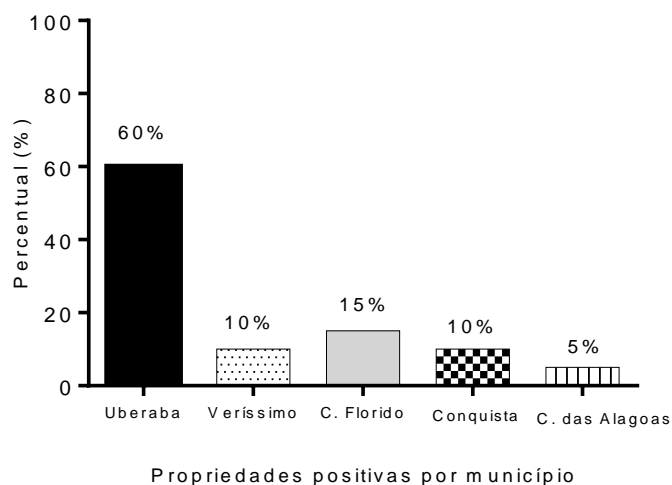
**Figura 13** – Perfil de positividade e negatividade das propriedades da microrregião de Uberaba (A) e perfil epidemiológico das propriedades positivas em relação ao tipo de atividade (B) e procedimentos com agulhas (C).

Em Uberaba a positividade para *T. vivax* foi observada em 24,4% (40/164) das amostras avaliadas enquanto em Veríssimo 17% (6/35), Conquista 8,8% (3/34), Conceição das Alagoas 3% (1/30) e em Campo Florido 9% (4/45). Nas cidades de Água Comprida (04/04) e Delta (15/15) 100% das amostras foram negativas (FIGURA 14).



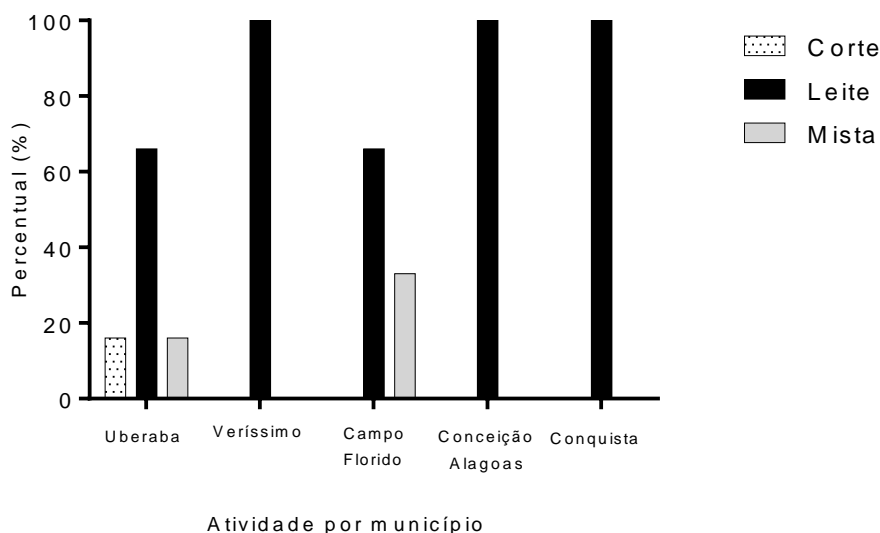
**Figura 14** - Prevalência da tripanossomíase bovina nos municípios da Microrregião de Uberaba-MG.

Das 20 propriedades positivas, 12 (60%) das propriedades estavam localizadas em Uberaba, três (15%) em Campo Florido, duas (10%) em Veríssimo, duas (10%) em Conquista e uma (5%) em Conceição das Alagoas (FIGURA 15).



**Figura 15** – Percentual de propriedades positivas para *T. vivax* nos municípios da microrregião de Uberaba-MG.

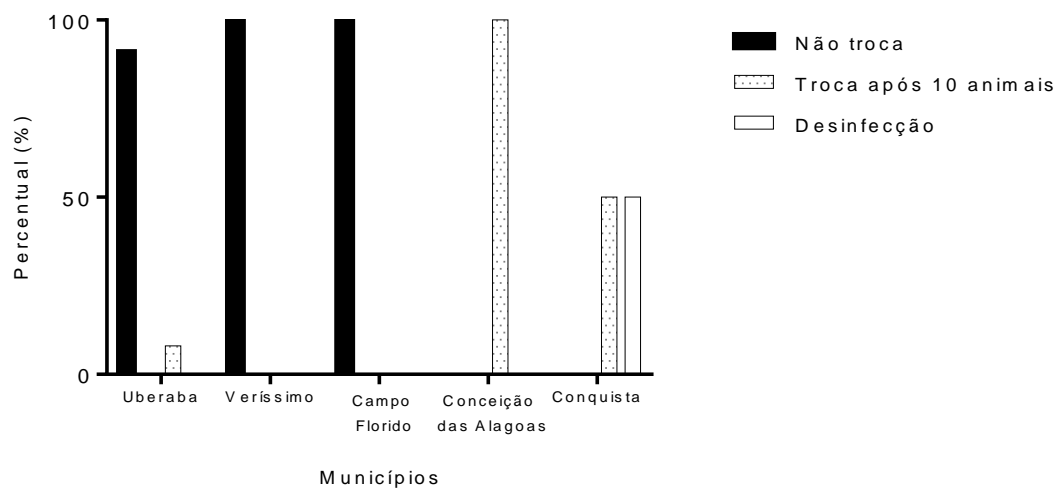
Em relação ao tipo de atividade desenvolvida nas propriedades positivas, em Uberaba oito (66,6%) eram destinadas a leite, duas a corte (16,7%) e duas mistas (16,7%). Em Campo Florido duas desenvolviam atividade leiteira (66,6%) e uma atividade mista (33,4%). Em Veríssimo, Conceição das Alagoas e Conquista 100% possuíam atividade leiteira (FIGURA 16). A prevalência de anticorpos anti *T. vivax* nos animais das propriedades dos municípios da microrregião de Uberaba que desenvolviam atividade leiteira foi estatisticamente superior as que desenvolviam atividade de corte e mista ( $P<0,05$ ).



**Figura 16-** Perfil das propriedades positivas para *T. vivax* em relação ao tipo de atividade desenvolvida.

Em Uberaba 11 (91,6%) propriedades positivas não trocavam agulhas durante as vacinações ou aplicação de medicamentos nos animais e uma (8,4%) realizava a troca a cada 10 animais. 100 % das propriedades positivas em Veríssimo (2) e Campo Florido (3) não realizavam a troca de agulhas e em Conceição das Alagoas a única propriedade positiva trocava a agulha a cada 10 animais. Em Conquista uma (50%) trocava a agulha a cada 10 animais e uma (50%) realizava a desinfecção (FIGURA 17). Diferença estatística significativa foi observada nas propriedades positivas que não realizavam manejo com as agulhas ( $P<0,05$ ).





**Figura 17** – Perfil das propriedades positivas para *T. vivax* em relação ao procedimento com agulhas.

## 5.2 ESTUDO DO SURTO

### 5.2.1 Estudo parasitológico

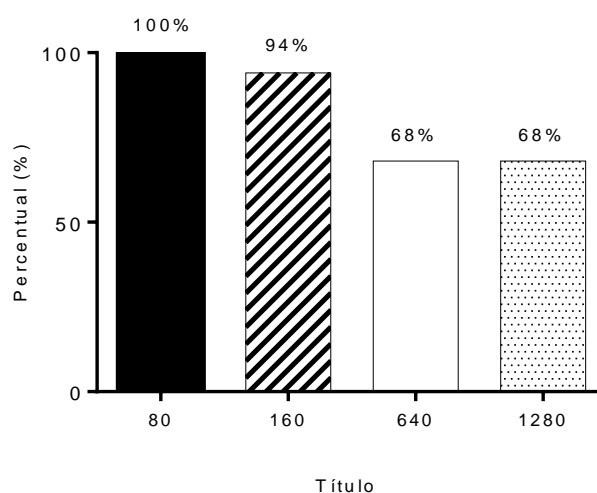
Das 16 amostras de sangue obtidas durante o surto da doença no município de Veríssimo 50% (8) apresentaram formas tripomastigotas de *T. vivax* (FIGURA 18).



**Figura 18** - Forma tripomastigota de *T. vivax* em esfregaço sanguíneo corado pelo Panótico Rápido® (aumento 1000x).

### 5.2.2 Estudo sorológico

Analisando as amostras de soro, por imunofluorescência indireta, obtidas durante o surto em Veríssimo pode-se observar que 100% (16) apresentaram anticorpos anti *T. vivax*. Os títulos variaram de 80 a 1280 e 100% dos animais apresentavam título de 80, 94% (15) 160, 68% (11) para 640 e 1280 (FIGURA 19).



**Figura 19** - Perfil dos títulos de anticorpos anti *T. vivax* dos animais provenientes de uma propriedade do município de Veríssimo-MG.

### 5.2.3 Perfil hematológico

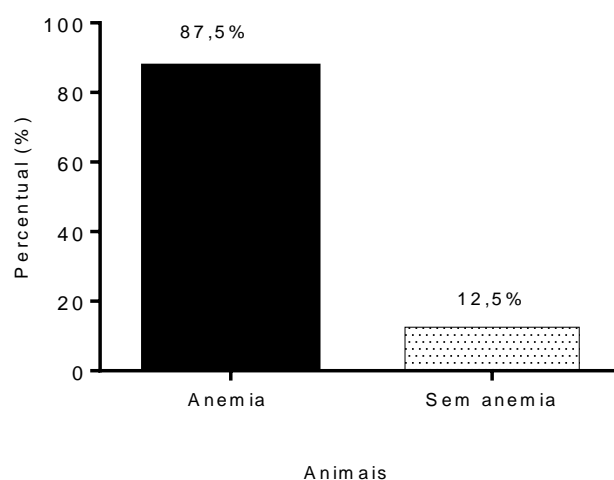
#### 5.2.3.1 Perfil eritrocitário

Os valores de referência de hemácia, hemoglobina e hematócrito variam respectivamente de 5,0 a 10,0 milhões/mm<sup>3</sup>, de 8,0 a 15,0g% e de 24 a 46% (RADOSTITS et al., 2002).

O resultado das amostras de hemácia, hemoglobina e hematócrito variaram respectivamente de 2,41 a 6,08 milhões/mm<sup>3</sup> (4,03±1,0), 4,80 a 7,90 g% (6,43±3,67) e de 14,40 a 27,9% (19,57±3,67). Na análise dos resultados eritrocitários, observou-se que 18,75% dos animais (03) apresentavam hemácias dentro da normalidade e 81,25% (13) apresentam valores inferiores aos descritos na literatura. Quanto às análises de

hemoglobina e hematócrito, 93,75% (15) encontravam-se abaixo dos valores de referência e 6,25% (01) estavam dentro da normalidade e que 87,50% (14) estavam abaixo da normalidade e 12,50% (02) dentro dos valores de referência, respectivamente. Os animais com exame parasitológico positivo apresentavam valores médios de hemácias, hematócrito e hemoglobina inferiores aos animais com resultados negativos.

Com base nesses resultados observou-se que 14 (87,50%) animais apresentavam anemia (FIGURA 20).



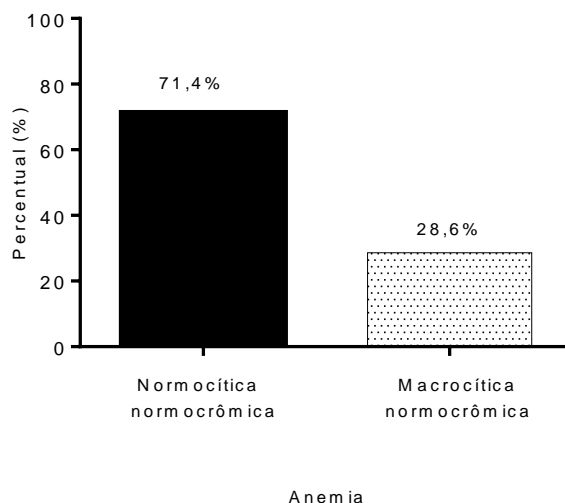
**Figura 20** - Percentual de animais anêmicos e não anêmicos durante o suto ocorrido em Veríssimo-MG.

Os valores de referência para VCM e CHCM e HCM variam respectivamente entre 37 a 54fL, 26 a 36g/dL e de 11,0 a 17,0 pg (RADOSTITS et al., 2002).

Os resultados de VCM, CHCM e HCM variaram respectivamente de 40,46 - 57,42fL ( $49,60 \pm 6,59$ ), 30,11 - 34,87g/dL ( $32,97 \pm 1,07$ ) e 12,56 - 19,03 pg ( $16,22 \pm 2,31$ ).

Em relação ao VCM observou-se que 68,75% (11) das amostras estavam dentro da normalidade e 31,25% (05) apresentavam valores aumentados. Para HCM 75% (12) estavam normais e 25% (04) acima dos valores de referência, e para CHCM 100% (16) das amostras estavam dentro da normalidade.

De acordo com os resultados obtidos observou-se que dos 14 animais anêmicos, 10 (71,40%) apresentavam anemia do tipo normocítica normocrômica e 04 (28,60%) do tipo macrocítica normocrômica (FIGURA 21). Os animais com anemia macrocítica normocrômica não apresentavam formas tripomastigotas de *T. vivax* no teste parasitológico (*Buffy Coat*).



**Figura 21** - Tipo de anemia apresentada pelos animais do surto.

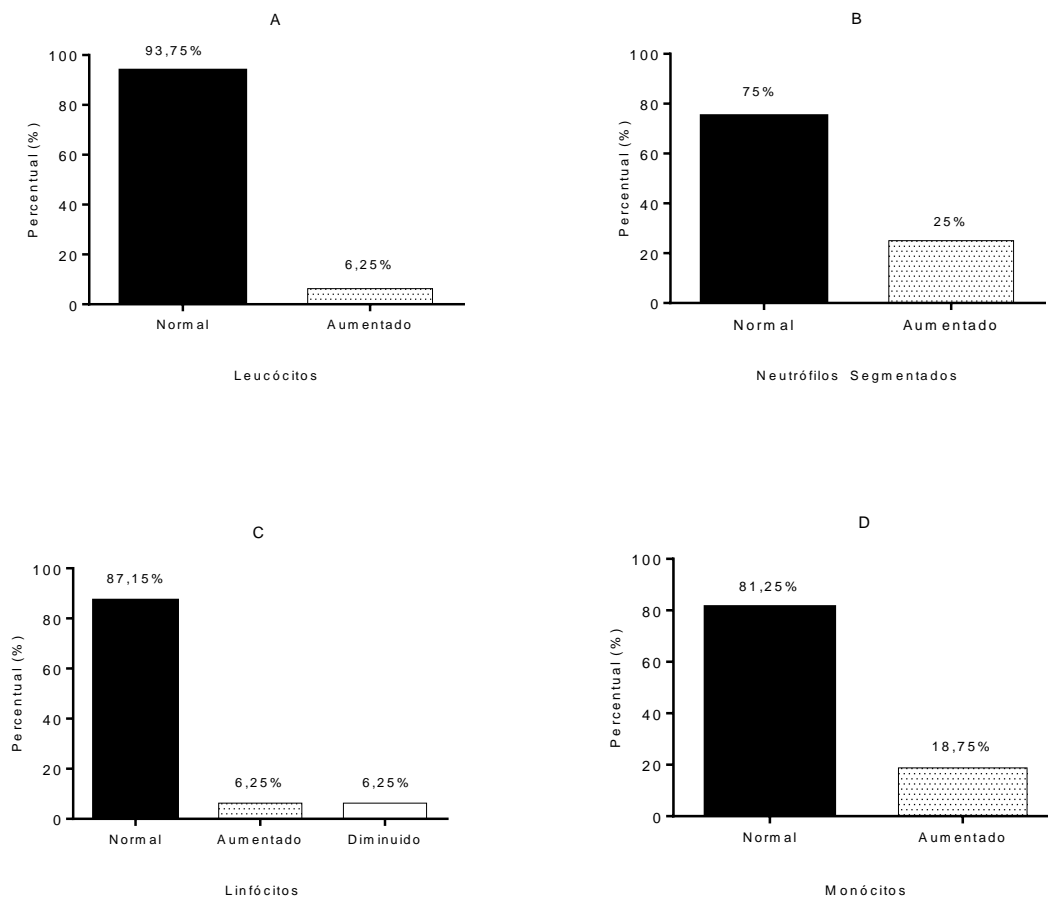
### 5.2.3.2 Perfil leucocitário

Os valores de referencia de leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilo variam respectivamente de 4000 a 12000 mm<sup>3</sup>, de 600 a 4000 mm<sup>3</sup>, de 2500 a 7500 mm<sup>3</sup>, de 25 a 840 mm<sup>3</sup>, de 0 a 2400 mm<sup>3</sup> e de 0 a 200 mm<sup>3</sup> (RADOSTITS et al., 2002).

Os valores das amostras de leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos variaram respectivamente de 4700 a 12300 mm<sup>3</sup> (8694±2154) de 990 a 21400 mm<sup>3</sup> (4070±4781) e de 3268 a 8250 mm<sup>3</sup> (5033±1551), enquanto os valores de monócitos e eosinófilos variaram respectivamente de 94 a 1540 mm<sup>3</sup> (547±405), de 0 a 1476 mm<sup>3</sup> (402 ±508). Basófilos foram encontrados em dois animais variando de 0 a 110 mm<sup>3</sup>.

93,75% (15) dos animais apresentaram leucócitos totais dentro da normalidade e 6,25% (01) leucocitose. Analisando neutrófilos segmentados pode-se observar que 75% (12) dos animais encontravam-se dentro da normalidade e 25% (04) apresentavam neutrofilia. Para linfócitos 87,15% (14) estavam dentro dos padrões normais, enquanto 6,25% (01) tinham linfocitose e 6,25% (01) linfopenia.

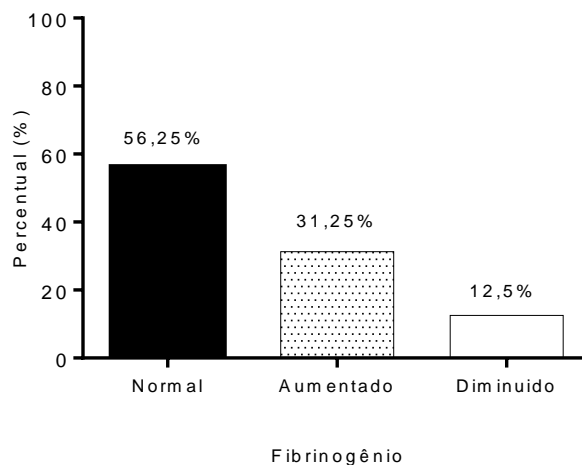
Para monócitos, 18,75% (03) se encontravam com monocitose (FIGURA 22). Para eosinófilos e basófilos, 100% (16) dos animais estavam dentro da normalidade. Os animais não apresentaram desvio leucocitário.



**Figura 22** - Perfil leucocitário dos animais do surto. A: Leucócitos, B: Neutrófilos Segmentados, C: Linfócitos e D: Monócitos.

### 5.2.3.3 Fibrinogênio

Os valores de referência para fibrinogênio variam entre 300 a 700 mg/dL (RADOSTITS et al., 2002). As amostras variaram entre 200 a 1200 mg/dL ( $600 \pm 253$ ), sendo a normalidade observada em 56,25% (09) dos animais, hiperfibrinogenemia em 31,25% (05) e hipofibrinogenemia em 12,50% (02) (FIGURA 23). A hipofibrinogenemia ocorreu somente em animais com resultados parasitológicos negativos.

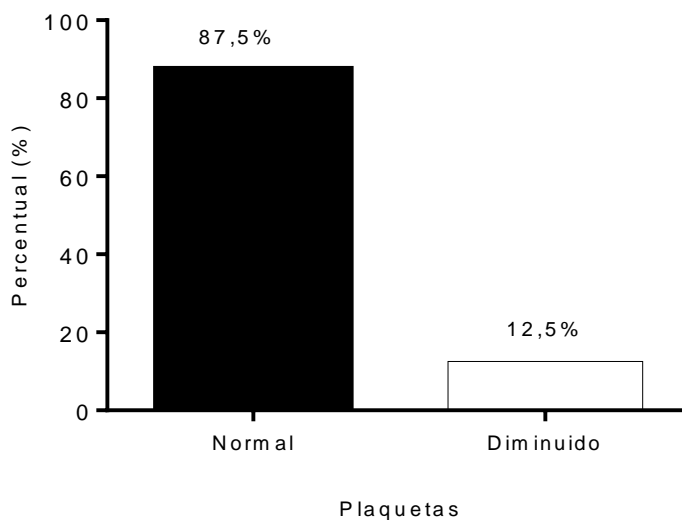


**Figura 23** - Perfil de fibrinogênio nos animais do surto.

#### 5.2.3.4 Plaquetas

Segundo Radostits et al. (2002), os valores de referência para plaquetas variam entre 100.000 a 800.000  $\text{mm}^3$ .

Pode-se notar que os níveis variam entre 74,71  $\text{mm}^3$  a 379.000  $\text{mm}^3$  ( $212.249,00 \pm 107.915,78$ ), sendo que 87,50% (14) das amostras estavam dentro da normalidade e 12,50% (02) apresentaram trombocitopenia (FIGURA 24).



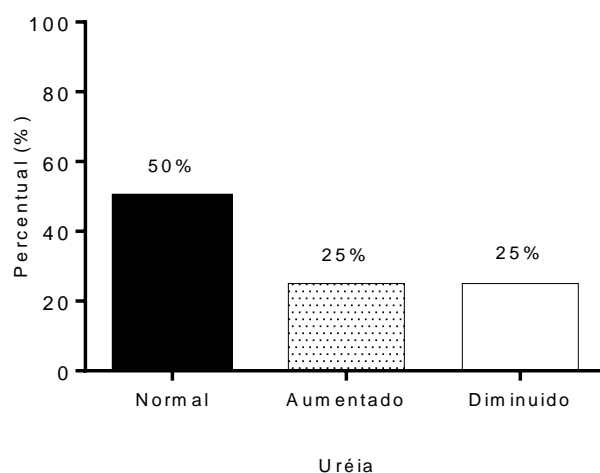
**Figura 24** – Perfil de Plaquetas nos animais do surto.

## 5.2.4 Perfil bioquímico dos animais do surto

### 5.2.4.1 Perfil renal

Os valores de referência para ureia e creatinina variam respectivamente entre 20 a 30 mg/dL e 1 a 2 mg/dL (KANEKO, et al., 1997).

Os resultados de ureia e creatinina variaram respectivamente entre 17 a 37 mg/dL ( $28 \pm 9$ ) e de 0,50 mg/dL a 0,892 mg/dL ( $0,64 \pm 0,14$ ). Nas análises para ureia, 50% (08) dos animais estavam dentro da normalidade, 25% (04) abaixo dos valores de referência e 25% (04) urêmicos (FIGURA 25). Quanto a creatinina, 100% das amostras estavam abaixo dos valores de referência.



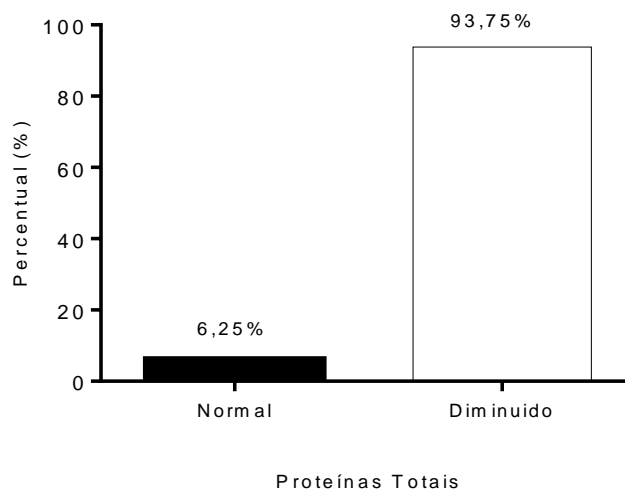
**Figura 25** – Perfil dos níveis séricos de ureia nos animais do surto.

### 5.2.4.2 Perfil proteico

Os valores de referência para albumina e proteínas totais variam respectivamente de 3,0 a 3,50 g/dL e de 6,74 a 7,46 g/dL (KANEKO, et al., 1997).

Os valores de albumina e proteínas totais variam respectivamente entre 1,40 a 2,40 g/dL ( $1,94 \pm 0,37$ ) e 2,30 e 6,80 g/dL ( $4,62 \pm 1,04$ ). Das 16 amostras analisadas,

100% apresentaram hipoalbuminemia, 6,25% (01) normalidade para proteínas e 93,75% (15) se encontravam abaixo dos valores de referência utilizados (FIGURA 26).



**Figura 26** – Perfil proteico dos animais do surto.

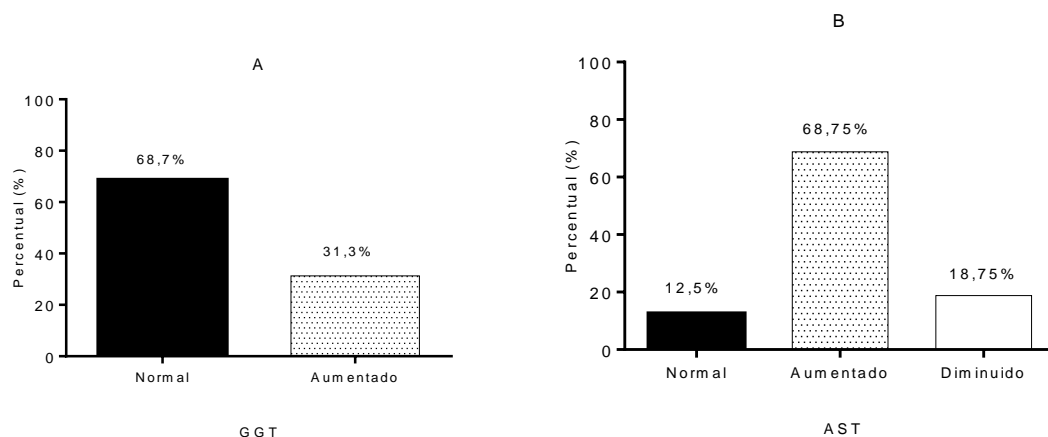
#### 5.2.4.3 Perfil hepático

Os valores de referência de GGT e AST variam respectivamente de 6,10 a 17,40 U/L e de 78 a 132 U/L (KANEKO et al., 1997).

Os resultados de GGT e AST variaram respectivamente de 7 a 45 U/L ( $40 \pm 16$ ) e de 8,13 a 420,50 U/L ( $189,76 \pm 123,35$ ).

Cabe citar que 68,70% (11) dos animais estavam dentro da normalidade para os níveis de GGT e 31,30% (05) acima dos valores de referência. Quanto aos valores de AST, 68,75% (11) encontravam-se acima da normalidade, 18,75% (03) abaixo do valor de referência e apenas 12,50% (02) apresentavam-se normais (FIGURA 27).

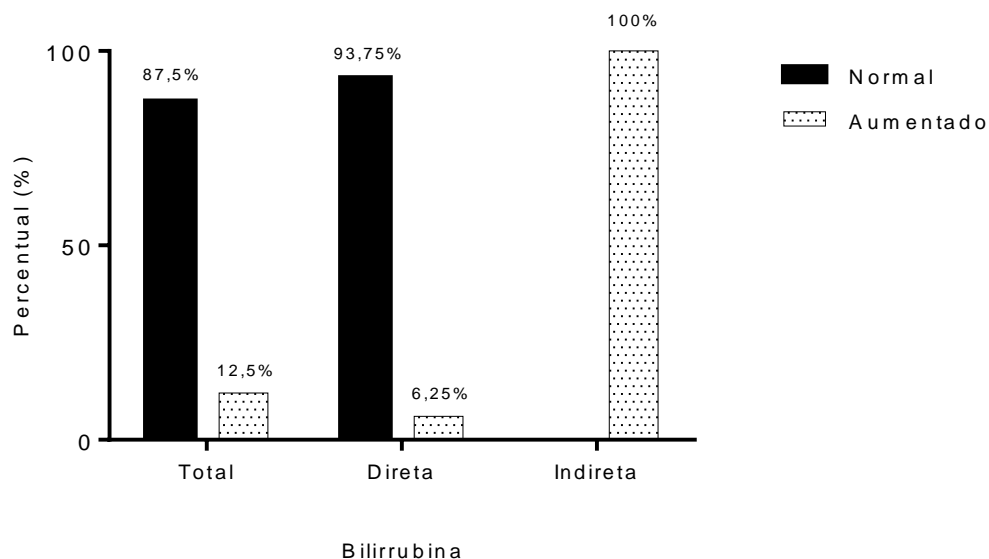




**Figura 27** - Perfil hepático dos animais do surto sendo, A: GGT e B: AST.

Os valores de referência de bilirrubina total, bilirrubina direta e bilirrubina indireta variam respectivamente de 0,01 a 0,50 mg/dL, 0,04 a 0,44 mg/dL e de 0 a 0,03 mg/dL (KANEKO et al., 1997).

Os resultados das análises de bilirrubina total, bilirrubina direta e bilirrubina indireta variaram respectivamente de 0,21 a 0,89 mg/dL ( $0,34 \pm 0,21$ ), 0,08 a 0,45 mg/dL ( $0,15 \pm 0,11$ ) e de 0,11 e 0,48 mg/dL ( $0,20 \pm 0,11$ ). Para bilirrubina total, 87,50% (14) dos animais estavam dentro da normalidade e 12,50% (02) apresentaram hiperbilirrubinemia. Para bilirrubina direta 93,75% (15) estavam dentro da normalidade e 6,25% (04) apresentaram hiperbilirrubinemia. Nas análises de bilirrubina indireta 100% (16) apresentaram hiperbilirrubinemia (FIGURA 28). Animais com tripomastigota circulante apresentavam níveis séricos de bilirrubina total, direta e indireta superiores aos animais negativos nos exames parasitológicos.



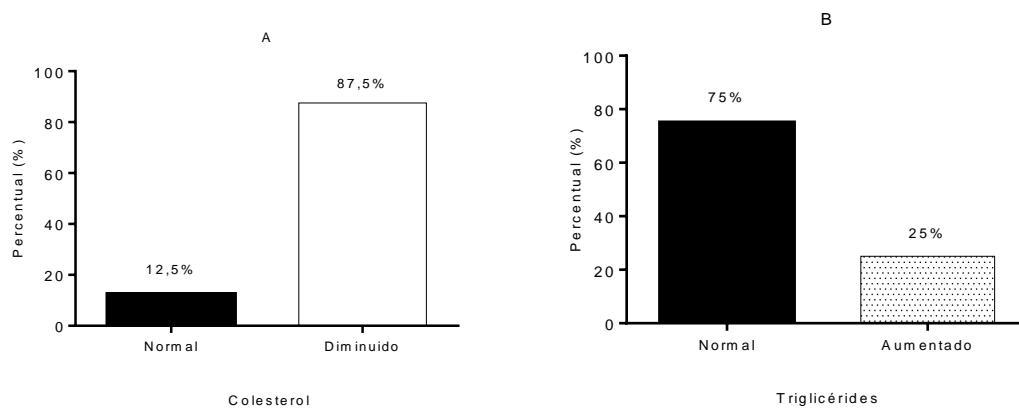
**Figura 28** – Perfil sérico de bilirrubina total, direta e indireta.

#### 5.2.4.4 Perfil lipídico e glicêmico

Os valores de referencia de colesterol e triglicérides variam respectivamente de 80 a 120 mg/dL e de 0 a 14 mg/dL (KANEKO, et al.,1997).

Os resultados de colesterol e triglicérides variaram respectivamente de 34 a 90 mg/dL ( $71 \pm 13$ ) e de 7 a 20 mg/dL ( $11 \pm 4$ ).

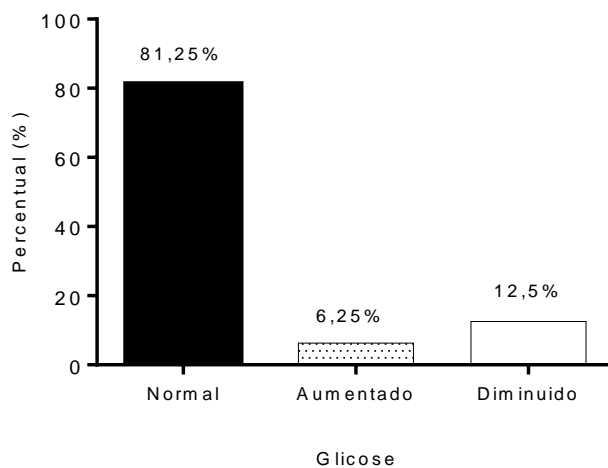
12,50% (02) dos animais apresentaram níveis séricos de colesterol dentro da normalidade e 87,50% (14) hipocolesterolemia. Para triglicérides, 75% (12) estavam dentro dos padrões de referência e 25% (4) apresentaram hipertrigliceridemia (FIGURA 29). Animais negativos nos exames parasitológicos apresentam níveis séricos de colesterol e triglicérides menores que os que apresentavam formas de tripomastigotas circulantes.



**Figura 29** – Perfil lipídico apresentado pelos animais do surto. A: colesterol e B: triglicérides.

Os valores de referência de glicose variam de 45 a 75 mg/dL (KANEKO, et al., 1997).

Os níveis séricos de glicose nas amostras variaram de 37 a 76 mg/dL ( $59 \pm 12$ ). Pode-se notar que 81,25% (13) dos animais encontravam-se normais, 12,5% (02) apresentam hipoglicemia e 6,25% (01) hiperglicemia (FIGURA 30). Animais com tripomastigotas circulantes apresentavam menor níveis séricos de glicose que os animais negativos nos exames parasitológicos.



**Figura 30** – Perfil glicêmico dos animais do surto.

## 6 DISCUSSÃO

Na análise parasitológica realizada nas 327 amostras do estudo epidemiológico, não se detectou formas tripomastigotas de *T. vivax*, o que pode ser explicado pela baixa sensibilidade dos testes parasitológicos (MASAKE et al., 1994, REBESKI et al. 1999, CUGLOVICI et al., 2010) e pela ausência de clínica nos animais (animais hígidos).

A ausência de parasitos não indica que os animais sejam negativos, isso porque, na fase crônica da doença a parasitemia não é detectável por esfregaço sanguíneo ou teste de Woo (MADRUGA et al., 2006).

Trabalho realizado por Cuglovici e colaboradores, em 2010 em Igarapé-MG mostrou que no início do surto a parasitemia era alta e no final de um ano não se observava mais parasitemia detectável.

Segundo Ventura et al. (2001) bovinos assintomáticos e em fase crônica da doença têm a detecção do parasita pelos métodos parasitológicos dificultada.

Sabe-se que a parasitemia é flutuante durante a infecção (MADRUGA et al., 2006), o que torna difícil o encontro de parasitos em esfregaços sanguíneos. Isso justifica o achado de tripomastigota de *T. vivax* em apenas 50% das amostras colhidas dos animais pertencentes à área do surto ocorrido em Veríssimo-MG. Mas essa positividade nos testes parasitológicos é superior a encontrada por Cuglovici et al. (2010) em Igarapé-MG onde observaram 23,1% dos animais positivos no teste de Woo.

Segundo Madruga (1964), na fase superaguda a parasitemia é alta e persistente, na fase aguda pode ser encontrado grande número de parasitos no sangue periférico, e na fase crônica da doença a parasitemia é baixa. Então, pode-se inferir que os animais da área de surto se encontravam na fase superaguda ou aguda da doença, pois mortalidade em outros animais da propriedade já havia sido observada.

A realização de método de diagnóstico sorológico como a RIFI pode comprovar se os animais negativos nos exames parasitológicos eram realmente negativos ou se encontravam na fase crônica ou subclínica da doença. Segundo Cuglovici et al. (2010), a fase crônica da doença está associada com parasitemias baixas e flutuantes e o estudo sorológico é importante na complementação dos exames parasitológicos, uma vez que os animais são capazes de controlar a parasitemia após a exposição ao parasito. Isto pode estar ligado à capacidade de resposta do sistema imunológico de alguns animais (resistência inata ou adquirida) ou mesmo à baixa virulência do isolado de *T. vivax* (UZOIGWE, 1986). Dos 327 animais, 16,2% apresentaram anticorpos anti *T. vivax* no

título de 80, portanto se encontravam na fase crônica ou subclínica da doença. Essa prevalência é maior do que a encontrada por Cuglovici et al. (2010), quando iniciaram os aparecimentos de casos clínicos da doença em Igarapé-MG, em 2007. A partir de 2009, Cuglovici et al. (2010) relataram aumento gradativo na prevalência dos títulos de anticorpos no mesmo município.

Prevalências superiores ao do estudo epidemiológico realizado na microrregião de Uberaba foram encontrados na região norte no estado do Pará (83% a 96,7%) por Guedes Júnior et al. (2008), precisamente na sub-região do Pantanal (34,48%), por Silva et al. (1997), na Paraíba por Batista et al. (2007) (49%) e Batista et al. (2008) (41,6%) e em Pernambuco onde Pimentel et al. (2012) registrou pela primeira vez a ocorrência de *T. vivax* em 100% do rebanho leiteiro em 2010.

Na região norte, estado do Tocantins, Linhares et al. (2006) registraram prevalência inferior (1,2%) à encontrada na microrregião de Uberaba, em bovinos vindo do estado de São Paulo e que possivelmente poderiam ser negativos ou estar na fase subclínica ou crônica da doença uma vez que eram provenientes de áreas tidas como livres para a doença. Segundo Linhares et al (2006) os animais submetidos a essa situação epidemiológica teriam risco de apresentar a doença clínica em decorrência de não serem imunes para a doença e estarem entrando em área enzoótica.

Nota-se que a prevalência da doença na microrregião de Uberaba ainda se encontra inferior aos estudos já apresentados nos demais estados do país, mas se tratando de uma região predominantemente de bovino leiteiro, onde o trânsito de animais é frequente devido a grandes exposições e a falta de um manejo mais adequado, pode-se levar a um aumento dos casos de *T. vivax* na região, o que poderia resultar em prejuízo sócio econômico, como sugerido por Paiva et al., 2000.

A maior prevalência foi encontrada no município de Uberaba (24,4%), seguido pelo município de Veríssimo (17%), Campo Florido (9%) e Conquista (8,8%). Essas prevalências foram inferiores aos achados de Cuglovici et al. (2010) em fevereiro de 2009 no município de Igarapé no mesmo estado.

A maior prevalência em Uberaba se justifica pelo município possuir um rebanho de alto valor genético e um elevado trânsito de animais vindos de vários estados, principalmente durante exposições que são realizadas ao longo do ano.

O trânsito de animais permite a entrada de animais infectados por *T. vivax* e consequentemente o estabelecimento da doença. Isso pode ser observado nos trabalhos realizados por Batista et al. (2007) e Pimentel et al. (2012) onde comentam que o

transito de animais foi a provável causa da introdução deste parasita no estado de Pernambuco e razões semelhantes foram propostas por Carvalho et al. (2008) em surto relatado em Igarapé-MG.

Segundo Madruga (1964), como os animais em fase crônica da doença não manifestam sinais clínicos, é difícil controlar a movimentação de rebanhos, o que pode justificar o aparecimento da doença e a disseminação do parasito.

Além do trânsito de animais, a realização de exposições, a o tipo de atividade desenvolvida na região é importante para ser analisado, pois segundo Rodríguez-Batista et al. (2005) animais destinados a produção leiteira tem maior predisposição a doença por ficarem agrupados em currais onde se concentra maior população de moscas. Batista et al. (2007; 2008), estudando a ocorrência de surtos por *T. vivax* na Paraíba, atribuíram a presença de vetores mecânicos, como tabanídeos e *Stomoxys* sp., como sendo um dos principais fatores responsáveis pela ocorrência desta enfermidade.

Correlacionando esses fatores epidemiológicos com os títulos de anticorpos encontrados nos municípios, nota-se que a maior prevalência de anticorpos foi no município de maior trânsito de animais (Uberaba-MG 24,4%) seguido pelos municípios onde a atividade leiteira é superior a 50% que são Veríssimo (75%), Campo Florido (75%), Conceição das Alagoas (80%) e Conquista (66,7%) e em propriedades destinadas a atividade leiteira.

As fazendas analisadas nos municípios de Delta e Água Comprida não realizavam atividade leiteira. Diante disso podemos inferir que o fato das propriedades estudadas nos municípios de Água Comprida e Delta não desenvolverem atividade leiteira possa ser uma das causas para a totalidade das amostras serem negativas para *T.vivax*.

Outro ponto importante para ser analisado e que interfere diretamente na transmissão de tripomastigotas de *T. vivax* é a transmissão iatrogênica (VARGAS; ARELLANO, 1997; JONES; DÁVILA, 2001).

O fato da maioria das propriedades (75%) não realizarem a troca correta de agulhas pode ser considerado outro veiculador da doença, uma vez que nas propriedades estudadas o habito da não substituição da agulha se mostrou frequente. Segundo Silva et al. (2002) a reutilização da mesma agulha em diversos animais é outro fator importante na transmissão de *T. vivax*, pois as formas sanguíneas dos tripanosomas são diretamente transferidas de um animal para outro por agulhas contaminadas com sangue infectado.

Propriedades dos municípios de Uberaba, Veríssimo e Campo Florido registraram valores superiores a 70% da não realização de troca de agulhas.

Analisando a soronegatividade dos animais por IFI na microrregião de Uberaba notou-se que em 2011, 83,8% não apresentavam anticorpos anti *T. vivax*, ou seja, os animais nunca tiveram contato com o agente, o que mostra que se trata de uma área praticamente livre para a doença e, portanto, estão predispostos a apresentar sinais clínicos quando submetidos a situações que favoreçam a transmissão do agente como mudanças no manejo nutricional, ambiente, estresse de transporte, uso de agulhas contaminadas, presença intensa de insetos vetores podem contribuir para o estabelecimento de surtos da doença em animais não imunes (LINHARES, et al., 2006, PAIVA et al, 2001).

Segundo Desta, Ayalew, Hegde (2012), a doença aparece normalmente nos períodos chuvosos e quentes, propiciando o crescimento e reprodução de moscas de vetor.

O surto ocorrido em Veríssimo pode ser explicado por alguns fatores epidemiológicos como elevados números de leilões de gado que existem na região, o que aumenta o trânsito de animais; elevado número de propriedades de leite, uso de agulhas comuns para vários animais (transmissão iatrogênica) e aumento de moscas (*Stomoxys*) devido ao uso de subprodutos de usinas.

Os sinais clínicos apresentados pelos animais como apatia, debilidade e fraqueza são semelhantes aos observados no estudo conduzido por Silva *et al.* (1999) na região do Pantanal brasileiro e planícies da Bolívia. Segundo Stephen, (1986) as manifestações clínicas da fase aguda são caracterizadas por anorexia, letargia, febre intermitente, adenopatia generalizada, anemia, imunossupressão e em algumas ocasiões, morte em menos de uma semana. Esses sinais clínicos, normalmente ocorrem após picos de parasitemia. Em Veríssimo, 50% dos animais não apresentaram formas tripomastigotas nos testes parasitológicos.

Como o *T. vivax* desenvolve todas as etapas de seu ciclo biológico no sangue circulante, pois é um local onde encontra todos os elementos necessários a sua função vital é frequente a observação de alterações no quadro hematológico (ANOSA; KANEKO 1983).

Neste contexto, a anemia foi observada em 87,5% animais e segundo Batista et al. (2008) esta é a alteração clínica mais frequente em animais infectados naturalmente ou experimentalmente por *T. vivax*, sendo atribuída à hemólise intra e extravascular,

diminuição ou inibição da eritropoiese e hemorragias que promovem a redução de hemácias, hematócrito e hemoglobina e geram consequentemente as anemias (ANOSA; KANEKO, 1983).

Ao avaliar os parâmetros hematológicos de bovinos infectados experimentalmente por *T. vivax* e *T. congolense*, Maxie, Losos e Tabel (1979) constataram o desenvolvimento de anemia macrocítica hipocrômica, associado à trombocitopenia e leucopenia.

Esses resultados diferem dos achados hematológicos observados nos animais infectados naturalmente, visto que a maioria dos animais apresentava anemia normocítica normocrômica (71,4%) e normalidade de leucócitos totais (93,7%), neutrófilos segmentados (75%), linfócitos (87,15%), monócitos (81,25%), eosinófilos e basófilos (100%). E dos observados por Esuevi e Saror, (1983) onde relataram leucopenia devida à linfopenia e neutropenia em gado zebu infectado experimentalmente por *T. vivax* e do trabalho realizado por Ugochukwu (1986) que observou que a infecção por *T. vivax* estava associada à diminuição dos valores plasmáticos de leucócitos em bovinos, devido a uma significativa redução do número de eosinófilos, monócitos e basófilos.

Entretanto, Saror, 1979 e Rhaymah, AL-Badrani, 2012 observaram, em animais infectados por *T. vivax*, anemia do tipo normocítica normocrômica, com tendência a se tornar macrocítica normocrômica, o que corrobora com os achados eritrocitários dos animais infectados naturalmente neste estudo, onde as anemias variaram de normocítica normocrômica (71,4%) a macrocítica normocrômica (28,6%). Sendo a anemia macrocítica somente observada nos animais com resultados parasitológicos negativos.

Desordens hemostáticas constituem uma importante alteração observada em animais parasitados por *T. vivax* e ocorrem devido à severa trombocitopenia (Olubayo, Mugeru, 1985) . Segundo esses autores a trombocitopenia é devido ao consumo de plaquetas para a formação de microtrombos induzidos pelo parasita. Porém, a maioria dos animais avaliados não apresentaram alterações plaquetárias (87,5%). A trombocitopenia ocorreu em apenas 12,5% dos animais.

Em bovinos o fibrinogênio é uma proteína utilizada como marcador de processos inflamatórios podendo preceder o desenvolvimento de neutrofilia e outras mudanças no leucograma (LATIMER; MAHAFFEY; PRASSE, 2003). Como na tripanossomíase africana o processo da inflamação se dá com infiltração de células mononucleares em praticamente todos os tecidos do corpo (JONES; DAVILA, 2001) esperava-se observar



hiperfibrinogenemia. Porém, nos animais avaliados apenas 31,25% dos animais apresentaram aumento de fibrinogênio e não foram observadas correlações entre esse aumento e parasitemia.

A hipofibrinogenemia observada nos animais (12,5%) pode estar associada a síndrome hemorrágica (LATIMER; MAHAFFEY; PRASSE, 2003), visto que bovinos infectados uma cepa queniana de *T. vivax* desenvolveram, após cinco semanas de inoculação, síndrome hemorrágica (GARDINER, 1989).

Segundo Vertegen, et al. (1991), infecções por *T. vivax* afetam o metabolismo energético e balanço de substâncias nitrogenadas em cabras. Segundo os autores, os animais após a infecção aumentam a necessidade de energia para a manutenção em 25%, o que justifica o aumento sérico de ureia, excreção urinária de creatinina e perda de peso dos animais. Esses achados corroboram com os baixos níveis séricos de creatinina (100%), apresentados pelos animais naturalmente infectados e o aumento de ureia sérica (25%).

Neste contexto, os dados obtidos sobre ureia e creatinina permitem inferir que os animais não apresentam lesão renal, e que as elevações dos níveis séricos de ureia estão relacionadas ao desequilíbrio energético dos animais avaliados. O que pode ser justificado também pelas observações de Latimer, Mahaffey e Prasse (2003) que mencionam que a diminuição da creatinina pode estar associada a diminuição de massa muscular. Os animais avaliados apresentavam fraqueza e debilidade.

A diminuição de proteína total (93%) e albumina (100%) observada nos animais também foram achados comuns em bovinos infectados experimentalmente com *T. vivax* (SCHENK, et al., 2001, KATUNGA-RWAKISHAYA, 1996).

Segundo Latimer, Mahaffey e Prasse, (2003), hipoproteinemia e hipoalbuminemia pode estar associada a hemorragias, mal nutrição e doenças hepáticas.

Em relação a doenças hepáticas pode-se observar que 68,7% dos animais não apresentavam alteração hepática, visto que AST e GGT encontravam-se entre os valores normais citados na literatura e 31,3% apresentavam lesão hepática devido à elevação dos níveis séricos de GGT. Resultado semelhante também foi observado por Schenk, et al., (2001)

As alterações de bilirrubinas observadas, principalmente em relação a bilirrubina indireta que apresentou-se elevada em 100% dos animais, estão relacionadas a hemólise intra e extra vascular que o tripanosoma promove (LATIMER; MAHAFFEY; PRASSE, 2003, BATISTA, et al. 2008).

Alteração nos níveis plasmáticos de glicose tem sido apontada como um importante achado clínico-laboratorial em animais infectados experimentalmente por *T. vivax* (PAIVA, et al., 2009).

Segundo Van Dam, et al. (1997) redução dos níveis séricos de glicose foi observado em cabras infectadas por *T. vivax* com correlação positiva ao aumento dos níveis de ácidos graxos livres no plasma, sugerindo o aumento de substrato energético para suprimir o balanço energético negativo. Segundo Kadima, et al (2000), a hipoglicemia é atribuída ao gasto energético da hipertermia e a utilização da glicose pelo tripanosoma. Esses resultados diferem dos encontrados nos animais infectados naturalmente onde a hipoglicemia foi observada em apenas 12,5% dos animais, e hipocolesterolemia em 87,5% dos animais.

Em relação aos ácidos graxos livres, a maioria dos animais infectados apresentavam níveis séricos de triglicérides dentro da normalidade (75%) e hipocolesterolemia (87,5%).

Hipocolesterolemia também foi encontrada em ovinos infectados experimentalmente com *Trypanosoma congolense* sendo que o declínio dos valores de colesterol inicia-se com o aparecimento dos tripanossomas na circulação, o que provavelmente esteja associado à liberação de produtos pelo parasito quando lisados (KATUNGA-RWAKISHAYA, 1996).

## 7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:

- A prevalência da tripanossomíase na microrregião de Uberaba-MG é baixa (16,2%).
- A microrregião de Uberaba possui animais com baixa resposta imune contra *T. vivax* o que pode predispor a ocorrência de surtos da doença.
- Animais em fase aguda da doença apresentam anemia, hipoalbuminemia, hipoproteinemia, hipocolesterolemia e hiperbilirrubinemia indireta.
- A tripanossomíase ocorre principalmente em propriedades que desenvolvem atividade leiteira e que não realizam descarte das agulhas, sendo esses fatores importantes na epidemiologia da tripanossomíase.
- Medidas profiláticas devem ser implantadas na região para evitar a disseminação da enfermidade.

## 8 REFERÊNCIAS

ADAM, Y.; MARCOTTY, T.; CECCHI, G.; MAHAMA, C.I.; SOLANO, P.; BENGALY, Z.; VAN DEN BOSSCHE, P. Bovine trypanosomosis in the Upper West Region of Ghana: Entomological, parasitological and serological cross-sectional surveys. **Research in Veterinary Science**, Pong-tamale, Ghana, n.92, p.462-468, 2012.

ADAMS, E.R.; HAMILTON, P.B.; RODRIGUES, A.C.; MALELE, I.I.; DELESPAUX, V.; TEIXEIRA, M.M.G.; GIBSON, W. New *Trypanosoma (Duttonella) vivax* genotypes from *tsé-tsé* flies in East Africa. **Parasitology Cambridge Journals**, p.1-10, set. 2009.

ANOSA, V.O.; KANEKO, J.J. Pathogenesis of *Trypanosoma brucei* in deer mice (*Peromyscus maniculatus*): Hematologic, erythrocyte biochemical, and iron metabolic aspects. **American Journal of Veterinary Research**, v.44, p.639-644, 1983.

BARROS, T., FOIL, L. Seasonal occurrence and relative abundance of *Tabanidae* (*Diptera*) from the Pantanal region. **Memories Entomology Intitute**, v.14, p.387-396, 1999.

BATISTA, J.S.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA, R.C.; GUERRA, J.L. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n.1, p. 31-37, 2006.

BATISTA, J.S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M.M.G.; MADRUGA, C.R.; SIMÕES, S.D.V.; MAIA, T.F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v.143, p.174-181, 2007.

BATISTA, J.S.; BEZERRA, F.S.B.; LIRA, R.A.; CARVALHO, J.R.G.; ROSADO NETO, A.M.; PETRI, A.A.; TEIXEIRA, M.G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.1, p. 63-69, jan. 2008.

BATISTA, J.S.; OLIVEIRA, A.F.; RODRIGUES, C.M.F.; DAMASCENO, C.A.R.; OLIVEIRA, I.R.S.; ALVES, H.M.; PAIVA, E.S.; BRITO, P.D.; MEDEIROS, J.M.F.; RODRIGUES, A.C.; TEIXEIRA, M.M.G. Infection by *Trypanosoma vivax* in goats and sheep in the Brazilian semi-arid region: From acute disease outbreak to chronic cryptic infection. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.131-135, 2009.

BATISTA, J.S.; RODRIGUES, C.M.F.; GARCÍA, H.A.; BEZERRA, F.S.B.; OLINDA, R.G.; TEIXEIRA, M.M.G.; SOTO-BLANCO, B. Association of *Trypanosoma vivax* in extracellular sites with central nervous system lesions and changes in cerebrospinal fluid in experimentally infected goats. **Veterinary Research**, v.42, 2011.

BEZERRA, F.S.; GARCIA, H.A.; ALVES, H.M.; OLIVEIRA, I.R.S.; SILVA, A.E.; TEIXEIRA, M.M.G.; BATISTA, J.S. *Trypanosoma vivax* in testicular and epididymal tissues of experimentally infected sheep. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, p. 575-582, 2008.

CADIOLI, F.A.; BARNABÉ, P.A.; MACHADO, R.Z.; TEIXEIRA, M.C.A.; ANDRÉ, M.R.; SAMPAIO, P.H.; FIDÉLIS JÚNIOR, O.L.; TEIXEIRA, M.M.G.; MARQUES, L.C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.2, p.118-124, abr./jun. 2012.

CARNEIRO, M.E. Protozoários Flagelados. In: MONTEIRO, Silvia Gonzalez. **Parasitologia na medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 356 p, 2011.

CARVALHO, A.U.; ABRÃO, D.C.; FACURY FILHO, E.J.; PAES, P.R.O.; RIBEIRO, M.F.B. Occurrence of *Trypanosoma vivax* in Minas Gerais state, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.3, p.769-771, 2008.

CEPANZO. Centro Panamericano de Zoonosis. **Procedimientos para estudios de prevalencia por muestro**. Buenos Aires, Nota técnica, v.18, n.1, p.35, 1979.

CICCO, L.H.S. **Mosca tsé-tsé**. 2011. Disponível em:  
<[http://www.saudeanimal.com.br/mosca\\_tse.htm](http://www.saudeanimal.com.br/mosca_tse.htm)>. Acesso em: 02 de janeiro de 2012.

CORDOVES, C.O.; FERNANDES, C.; GARCIA-AVILA, I.; BROCHE, G.R. *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905). Lista de transmissores mecânicos em Cuba. **Revista Cubana de Ciências Veterinária**, v.13, n.2, p.219-221, 1982.

CUGLOVICI, D. A., BARTHOLOMEU, D.C.; REIS-CUNHA, J.L.; CARVALHO, A.U.; RIBEIRO, M.F.B. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 2010.

D'ARCHIVIO S. MEDINA, M.; COSSON, A.; CHAMOND, N. ROTUREAU, B.; MINOPRIO, P.; GOYARD, S. Genetic Engineering of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* and *in vitro* differentiation under Axenic Conditions. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.5, p.1461, dez., 2011.

DABUS, D.M.M.; CAMPOS, D.F.; NEVES, M.F. *Trypanosoma vivax*. **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED/ACEG**, Revistas científicas eletrônicas, SP: Labienópolis, ano VII, n.161, 2011, 12 ed. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria12/revisao/pdf/AnoVII-Edic12-Rev161.pdf>>. Acesso em 01 de dezembro de 2011.

DÁVILA, A.M.R.; HERRERA, H.M.; SCHLENBINGER, T.; SOUZA, S.S.; TRAUBCSEKO, Y.M. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomiasis in the Pantanal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.117, p.1-13, 2003.

DESQUESNES, M. Evaluation of a simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosoma vivax* infection in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen–enzyme-linked immuno sorbent assay. **Acta Tropica**, n.65, p.139-148, 1997.

DESTA, T.T.; AYALEW W.; HEGDE, P.B. Farmers' perceptions on trypanosomosis and trypanotolerance character of the taurine Sheko. **Tropical Animal Health Production**, n.44, p.609-616, 2012.

DICKIN, S.; GIBSON, W. Hybridisation with a repetitive DNA probes revealsthe presence of small chromosomes in *Trypanosoma vivax*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v.33, p.135-142, 1989.

ESUEVI, K.A.; SAROR, D.I. Leukocyto response in experimental *Trypanosoma vivax* infecion in cattle. **Jounal of Comparative Pathology**, v.93, n.2, p.165-169, 1983.

GALIZA, G.J.N.; GARCIA, H.A.; ASSIS, A.C.O.; OLIVEIRA, D.M.; PIMENTEL, L.A.; DANTAS, A.F.M.; SIMÕES, S.V.D.; TEIXEIRA, M.M.G.; RIET-CORREA, F. High mortality and lesions of the central nervous system in Trypanosomosis by *Trypanosoma vivax* in Brazilian hair sheep. **Veterinary Parasitology**, n.182, p.359-363, 2011.

GARCÍA, H.; GARCÍA, M.E.; PÉREZ, G.; BETHENCOURT, A.; ZERPA, É.; PÉREZ, H.; MENDONZA-LEÓN, A. Trypanosomiais in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. **Annals of Tropical Medicine e Parasitologia**. v. 100, n. 4, p. 297-305, 2006.

GARDINER, P.R. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. **Advances in Parasitology**. n.28, p.229-317, 1989.

GUEDES JUNIOR, D.S.; ARAÚJO, F.R.; SILVA, F.J.M.; RANGEL, C.P.; BARBOSA NETO, J.D.; FONSECA, A.H. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the northeastern region of the state of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia**, v.08, n.17, p.105-109, 2008.

GUERRA, R.M.S.N.C.; FEITOSA JÚNIOR, A.B.; SANTOS, H.P.; ABREU-SILVA, A.L.; SANTOS, A.C.G. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. **Ciência Rural**, v.38, n.3, mai-jun, 2008.

GUERREIRO, L.T.A. **Identificação e caracterização de micirculos de *Trypanosoma vivax* (Zieman, 2005) através de geração e análise de GSS (Genome Sequence Survey)**. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.

HOARE, C.A. The trypanosomes of mammals, *In*: HOARE, C.A. **A zoological Monograph Classification** (Ed.). Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1972. p. 60-80.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2011**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=mg&tema=pecuaria2011>. Acesso em 05 de janeiro de 2013.

JONES, T.W.; DAVILA, A.M.R. *Trypanosoma vivax* - out of África. **TRENDS in Parasitology**, v.17, n.2, 2001.

KADIMA, K.B. GYANG, E.O.; SAROR, D.I.; ESIEVO, K.A.N. Serum biochemical values of *Trypanosoma vivax* infected cattle and effects of lactose in saline infusion. **Veterinary Arhiv**, v.70, n.2, p.67-74, 2000.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. **Academic Press**, 5<sup>o</sup> ed. San Diego, 1997.

KATUNGA-R WAKISHAYA E. Influence of *Trypanosoma congolense* infection on some blood inorganic and protein constituents in sheep. **Revue D'élevage Médecine Veterinária Pays Tropicaux**. v. 49, n.4, p.311-314. 1996.

LATIMER, K.S.; MAHAFFEY, E.A.; PRASSE, K.W. Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine. **Clinical Pathology**. 4 ed. Iowa State Press, 2003.

LEJON, V.; REBESKI, D.E.; NDAO, M.; BAELMANS, R.; WINGER, E.M.; FAYE, D.; GEERTS, S.; BUSCHER, P. Performance of enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies against *T. congolense* and *T. vivax* in goats. **Veterinary Parasitology**, v. 116, n. 2, p. 87-95, 2003.

LEVINE, N.D. Protozoan parasites of Domestic Animals and of Man. 2 ed. Minneapolis: **Burgess Publishing Company**, 406p., 1973.

LINHARES, G.F.C.; DIAS FILHO, F.C.; FERNANDES, P.R.; DUARTE, S.C. Tripanossomíase em bovinos no município de formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). **Ciência Animal Brasileira**, v.7, n.4, p.455-460, out/dez 2006.

MADRUGA, C.R. Frequência de anticorpos para *Trypanosoma vivax* no cerrado sul do Estado do Mato Grosso. **Veterinary Bulletin**, v. 34, n. 563, p. 1-7, 1964.

MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F.R.; CAVALCANTE-GOES, G.; MARTINS, C.; PFEIFER, I.B.; RIBEIRO, L.R.; KESSLER, R.H.; SOARES, C.O.; MIGUITA, M.; MELO, E.P.; ALMEIDA, R.F.; LIMA JÚNIOR, M.M. The development of an enzyme-linked immune sorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n.7, nov. 2006.

MADRUGA, C.R. Epidemiologia do *Trypanosoma vivax* no Brasil, **Universidade Federal da Bahia**, Salvador, 2009. Disponível em: <[www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/download/7668/5441](http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/download/7668/5441)>. Acesso em: 27 jan, 2012.

MAGONA, J.W.; MAYEND, D.J.S.; OLAHO-MUKANI, W.; COLEMAN, P.G.; JONSON, N.N.; WELBURN, S.C.; EISLER, M.C. A comparative study on the clinical, parasitological and molecular diagnosis of bovine tripanosomosis in Uganda. Onderstepoort. **Journal of Veterinary Research**, v.70, p.213-218, 2003.

MAJIWA, P.A.; MAINA, M.; WAITUMBI, J.N.; MIHOK, S.; ZWEYGARTH, E. *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*: molecular characterization of a new genotype from Tsavo, Kenya. **Parasitology**, Amsterdam, v.106 (Pt 2), p.151-162, 1993.

MASAKE, R.A.; MAJIWA, P.A.; MOLOO, S.K.; MAKAU, J.M.; NJUGUNA, J.T.; MAINA, M.; KABATA, J.; OLE-MOIYOI, O.K.; NANTULYA, V.M. Sensitive and specific detection of *Trypanosoma vivax* using the polymerase chain reaction. **Experimental Parasitology**, New York, v.85, p.193-205, 1997.



MASIGA, D.K.; McNAMARA, J.J.; GIBSON, W.C. A repetitive DNA sequence specific for *Trypanosoma (Nannomonas) godfreyi*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.62, p.27- 33, 1992.

MATTIOLI, R.C.; WILSON, R.T. Trypanosomes, *tsé-tsé* and trypanotolerance: coevolution in Tropical Africa. **Parasitologia**, v. 38, p. 531-535, 1996.

MAXIE, M.G.; LOSOS, G.J.; TABEL, H. Experimental bovine tripanosomiasis (*Trypanosoma vivax* and *Trypanosma congulense*) I. Symptomatology and clinical pathology. **Tropenmedizin und Parasitologie**. v.30, p.274-282, 1979.

MONTEIRO, S.G. **Parasitologia na medicina veterinária**. São Paulo: Roca, c2011. 356 p.

MYLER, P.J. Molecular variation in trypanosomes. **Acta Tropica**, v.53, p.205-225, 1993.

NYEKO, J.H.P.; OLE-MOIYOI, O.K.; MAJIWA, P.A.O.; OTIENO, L.H.; OCIBA, P.M. Characterisation of trypanosome isolates from Uganda using species-specific DNA probes reveals predominance of mixed infections. *Insect Science and its Applications*, **Nairobi**, v.11, p.271-280, 1990.

OLUBAYO, R.O. & MUGERA G.M. . Patogenesis of haemorrhages in *Trypanosoma vivax* in cattle. I. Disseminated intravascular coagulation. **Bulletin Animal Health Production**. v.33, p.211-217. 1985.

OTTE, M.J.; ABUABARA, J.Y. Transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the neo tropical horsefly *Tabanus nebulosus*. **Acta Tropica**, v.49, p.73-76, 1991.

OZÓRIO, A.L.A.R.; MADRUGA, C.R.; DESQUESNES, M.; SOARES,C.O.; RIBEIRO, L.R.R.; COSTA, S.C.G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World. **Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.103, p.1-13, fev. 2008.

PAIVA, F.; LEMOS, R.A.A.; NAKAZATO, L.; MORI, A.E.; BRUM, K.B.; BERNARDO, K.C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I – acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.2, p.135-141. 2000.

PAIVA, E. **Tripanossomíase por *Trypanosoma vivax* em pequenos ruminantes: descrição de surtos e infecção experimental da doença.** 2009, 84f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Rio Grande do Norte, 2009.

PEREGRINE, A.S. Chemotherapy and delivery systems; haemoparasites. **Veterinary Parasitology**, v.54, p.223-248, 1994.

PIMENTEL, D.S.; RAMOS, C.A.N.; RAMOS, R.A.N.; ARAÚJO, F.R.; BORBA, M.L.; FAUSTINO, M.A.G.; ALVES, L.C. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.185, p.286-289, 2012.

RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos.** 9ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1737p., 2002.

RHAYMAH, Clinical and diagnostic study of trypanosomiasis of cattle in mosul, Iraq. **Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences.** v.2, n.1, 2012.

REBESKI, D.E.; WINGER, E.M.; ROGOVIC, B.; ROBINSON, M.M.; CROWTHER, J.R.; DWINGER, R.H. Improved methods for the diagnosis of African Trypanosomosis. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 249-253, 1999.

RODRÍGUEZ-BATISTA, Z.; LEITE, R.C.; OLIVEIRA, P.R.; LOPES, C.M.L.; BORGES, L.M.F. Populational dynamics of *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus) (Diptera: Muscidae) in three biocenosis, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.130, p.343-346, 2005.

SAROR, D.I. Classification of the anemia of bovine trypanosomiasis. **Veterinary Record.** v.105, n. 4, p. 96-98, 1979.

SCHENK, M.A.M.; MENDONÇA, C.L.; MADRUGA, C.R.; KOHAYAGAWA, A.; ARAÚJO, F.R. Avaliação clínico laboratorial de bovinos Nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v.21, n.4, p. 157-161. 2001.

SEKONI, V.O. Reproductive disorders caused by animal trypanosomiasis: A Review. **Theriogenology**, v.42, n.4, p.557-570, 1994.

SILVA, R.A.M.S.; SILVA, J.A.; SCHNEIDER, R.C.; FREITAS, J.; MESQUITA, D.; MESQUITA, T.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R.; PEREIRA, M.E.B. Outbreak of Trypanosomiasis Due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in Bovines of the Pantanal, Brazil. **Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 5, p.561-562, set./out. 1996.

SILVA, R.A.M.S.; SILVA, J.A.; FREITAS, J.; MORALES, G.; EULERT, E.; YBANEZ, R.; MONTENEGRO, A.; DÁVILA, A.M.R.; RAMIREZ, L. Tripanossomose bovina por *Trypanosoma vivax* no Brasil e Bolívia: Sintomas clínicos, diagnósticos e dados epizootiológicos. **Embrapa**, Corumbá-MS, 17p., 1997.

SILVA, R.A.M.S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: Biologia, Diagnóstico e Controle. **Embrapa**, Corumbá-MS, p.01-137, 2002.

SILVA, R.A.M.S.; PELLEGRIN, A.O.; LIMA, E.S.S.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R. Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-Grossense e Bolívia. **Embrapa**, Corumbá-MS, p.01-21, 2004.

SILVA, A.S.; COSTA, M.M.; POLENZ, M.F.; POLENZ, C.H.; TEIXEIRA, M.M.G.; LOPES, S.T.A.; MONTEIRO, S.G. First report of *Trypanosoma vivax* in bovines in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2550-2554, nov. 2009.

SIMUKOKO, H.; MARCOTTY, T.; VERCRUYSSSE, J.; BOSSCHE, P.V. Bovine trypanosomiasis risk in an endemic area on the eastern plateau of Zambia. **Research in Veterinary Science**, Lusaka, Zambia, n.90, p.51-54, 2011.

STATSOFT. Statistics for windows 7.0. Tulsa, OK: StatSoft, Inc. 2008.

STEPHEN, L.E. **Trypanosomiasis**: a veterinary perspectiva. New York: Pergamon Press., p.533, 1986.

UGOCHUKWU, E.L. Haematologia observations on bovine trypanosomiasis of Holstein Friesian breed. **International Journal Zoology**. v.23, n.2, p.89-92, 1986.

UZOIGWE, N.R. Self-cure in Zebu calves experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, v.22, p.141-146, 1986.

VAN DAN, J.T.P.; SCHRAMA, J.W.; VREDEN, A.; VERSTEGEN, M.W.A.; WENSING, T.; HEIDE, D.V.; ZWART, D. The effect of previous growth retardation on energy and nitrogen metabolism of goats infected with *Trypanosoma vivax*. **British Journal of Nutrition**, n.7, p.427-441, 1997.

VARGAS T.M.; ARELLANO S.C. La tripanosomiasis bovina en América Latina y el Caribe. **Veterinaria** (Montevideo), v.33, p.17-21, 1997.

VAZ, A.J.; TAKEI, K.; BUENO, E.C. Imunoensaios: Fundamentos e Aplicações. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

VENTURA, R.M.; PAIVA, F.; SILVA, R.A.M.; TAKEDA, G.F.; BUCK, G.A.; TEIXEIRA, M.M.G. *Trypanosoma vivax*: Characterization of the Spliced-Leader Gene of a Brazilian Stock and Species-Specific Detection by PCR Amplification of an Intergenic Spacer Sequence. **Experimental Parasitology**, n.99, p.37-48, 2001.

VERSTEGEN, M.W.A.; ZWART, D.; VAN DER HEL, W.; BROUWER, B.O.; WENSING, T. Effect of *Trypanosoma vivax* infection on energy and nitrogen metabolism of West African Dwarf goats. **Journal of Animal Science**. v.69, p.1667-1677, 1991.

WHO. Epidemiology and control of African trypanosomiasis. [S.l.: s.n.], 1986.128 p. (**Technical Report Series**, 739).

WOLKMER, P.; SILVA, A.S.; CARGNELUTTI, J.F.; COSTA, M.M.; TRAESEL, C.K.; LOPES, S.T.A.; MONTEIRO, S.G. Resposta eritropoética de ratos em diferentes graus de parasitemia por *trypanosoma evansi*. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1682-1687, nov./dez. 2007.

WOO, P.T.K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomosis. **Acta Tropica**, v.27, p.384-386, 1970.