

UNIVERSIDADE DE UBERABA
NATHALI ADRIELLI AGASSI DE SALES

PERFIL PARASITOLÓGICO E SOROEPIDEMIOLÓGICO DA
TRIPANOSSOMÍASE EM BOVINOS COM SUSPEITA CLÍNICA DA DOENÇA

UBERABA, MG

2021

NATHALI ADRIELLI AGASSI DE SALES

PERFIL PARASITOLÓGICO E SOROEPIDEMIOLÓGICO DA
TRIPANOSSOMÍASE EM BOVINOS COM SUSPEITA CLÍNICA DA DOENÇA

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 Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Joely Ferreira Figueiredo Bittar

UBERABA, MG

2021

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central
UNIUBE

S32p Sales, Nathali Adrielli Agassi de.
Perfil parasitológico e soropidemiológico da
tripanossomíase em bovinos com suspeita clínica da doença /
Nathali Adrielli Agassi de Sales. – Uberaba, 2021.
53 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba.
Programa de Mestrado em Medicina Veterinária,
concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do
Programa de Pós-Graduação.
Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar.
Coorientadora: Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar.

1. Tripanossomose em animais. 2. Epidemiologia. 3.
Diagnóstico. 4.
Bovino. 5. Resposta imune. I. Bittar, Eustáquio Resende. II.
Bittar, Joely
Ferreira Figueiredo. III. Universidade de Uberaba. Programa
de Mestrado em Medicina Veterinária. IV. Título.

CDD 616.9363

NATHALI ADRIELLI AGASSI DE SALES

PERFIL PARASITOLÓGICO E SOROEPIDEMIOLÓGICO DA TRIPANOSSOMÍASE
EMBOVINOS COM SUSPEITA CLÍNICA DA DOENÇA

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 Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

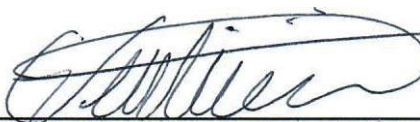
Área de concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos

Aprovada em: 26/02/2021

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar –
Orientador
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Guilherme Costa Venturini
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Alessandra Aparecida
Medeiros -Ronchi
Universidade Federal de Uberlândia

Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.

Francisco Cândido Xavier

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pela fé que me fez superar dificuldades e persistir em busca de meus sonhos. Por sempre guiar meus passos.

Agradeço de forma imensurável aos meus pais por todo amor, dedicação, atenção que sempre me cuidaram. Por me conduzirem ao longo deste árduo caminho e proporcionarem esta conquista. Pelos ensinamentos, sobretudo respeito e honestidade. Por serem minha inspiração como ser humano e me fazerem entender o verdadeiro significado da palavra família.

À minha irmã por me ensinar a compartilhar e pensar no próximo, me ensinar a ver o que há de bom em mim e acreditar no meu potencial. Por não ser apenas a irmã que a vida me deu, mas por ser também amiga, companheira e confidente que se tornou. E ao Caio Augusto Cunha por ter se tornado um irmão que a vida me deu.

À minha avó, Joana, que esteve sempre presente em cada momento de minha vida com suas orações que me ajudaram a ter força e seguir nesta longa caminhada. A todos da minha família que acreditaram, torceram e contribuíram com apoio e carinho.

Aos amigos de longa data, em especial à Gabriela da Silva Olympio, Fernanda Louise Pereira Lavorente, Nara Hernades Gorini e Marielen de Souza que me acompanham desde os tempos em que tudo isso não passava de planos. Obrigada pelos estudos, lágrimas, alegrias, cada minuto do tempo dedicado a cultivar nossa amizade e me fazer perceber que quando é verdadeiro, o tempo não apaga.

Agradeço a todos os amigos verdadeiros que encontrei por aqui, desde o período de residência até o mestrado: Sabrina, Trayse, Iara, Julia, Juliana, Denise, Vitor e Marina. Por não desistirem de mim e me ajudarem em um período complicado. A todos os demais colegas que tornaram a sala de aula um lugar agradável para se aprender.

Agradeço a todos os professores que serviram de inspiração e me apoiaram.

Ao Professor Eustáquio Resende Bittar, pela oportunidade e confiança.

À Professora Joely Ferreira Figueiredo Bittar por compartilhar seus ensinamentos, contribuindo com meu amadurecimento e aprendizado.

Ao Professor Guilherme Costa Venturini, por todas as vezes que me auxiliou e orientou.

Aos professores, por aceitarem fazer parte da banca examinadora deste trabalho e contribuir para o enriquecimento do mesmo.

A todos do Hospital Veterinário de Uberaba, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

A CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

RESUMO

A tripanossomíase bovina causada pelo *Trypanosoma vivax* tem impacto negativo sobre a pecuária, gerando grandes perdas econômicas devido à morte de cerca de três milhões de bovinos anualmente. A comercialização do cloridrato de isometamidium como forma de tratamento para a tripanossomíase no Brasil foi permitida pela ANVISA em 2016. O uso de forma indiscriminada ou de maneira profilática pode ter como consequência resposta imune inadequada. Desde sua liberação notou-se que a detecção de anticorpos na microrregião de Uberaba, MG, atingiu pico em 2016 e começou a decair a partir de então. Neste contexto, o presente trabalho objetivou realizar um estudo parasitológico e soroepidemiológico de amostras de sangue de bovinos encaminhadas ao Hospital Veterinário de Uberaba com suspeita clínica de Tripanossomíase por *T. vivax*, no período entre 2017 e 2019. Foram encaminhadas 12875 amostras para o Hospital Veterinário de Uberaba, 0,46% (59/12875) foram requisitadas pesquisa de tripomastigosta de *T. vivax* na papa leucocitária (BCT), 93,28% (12010/12875) pesquisa de anticorpos anti *T. vivax* por imunofluorescência indireta (IFI) e 6,26% tiveram solicitação para ambos os testes (806/12875). No exame parasitológico, 1,85% (16/865) apresentaram resultado positivo, sendo que as prevalências por ano foram: 2017 (2,31% - 14/605), 2018 (1,04% - 2/193) e 2019 (0% - 0/67). Na sorologia 55,18% (7073/12816) apresentaram anticorpos IgG anti *T. vivax*, com títulos variando de 80 a 1280. A prevalência de amostras positivas para os anos de 2017, 2018 e 2019 foram respectivamente: 76,62%, 53,84%, 36,40%. Neste contexto, pode-se concluir os animais que apresentam suspeita clínica de tripanossomíase estão tendo contato com o agente e houve declínio dos animais que apresentam a fase aguda da tripanossomíase bovina nas regiões analisadas no presente trabalho.

Palavras-chaves: *Trypanosoma vivax*, Epidemiologia, Diagnóstico, *Bos taurus*, Imunofluorescência, Resposta Imune

ABSTRACT

Bovine trypanosomiasis caused by *Trypanosoma vivax* has a negative impact on livestock, leading to large economic losses due to the death of about three million cattle annually. The isometamidium chloride as trypanosomiasis treatment for trypanosomiasis in Brazil was allowed by ANVISA in 2016. The indiscriminate use or prophylaxis using the drug may result in an inadequate immune response. After the liberation of the drug, it has been noticed that the detection of antibodies in the microregion of Uberaba, MG, reached the peak in 2016 and began to decline from then on. In this context, this study aimed to perform out a parasitological and seroepidemiological study of blood samples from cattle that were sent to the Veterinary Hospital of Uberaba with clinical suspicion of Trypanosomiasis caused by *T. vivax*, in the period between 2017 and 2019. There were 12875 samples sent to the Veterinary Hospital of Uberaba, 0.46% (59/12875) were requested to search for *T. vivax* trypomastigoste searching in the leukocyte layer (BCT), 93.28% (12010/12875) were searching for anti *T. vivax* antibodies using indirect immunofluorescence (IFI) technique and 6.26% had requests for both tests (806/12875). In the parasitological examination, 1.85% (16/865) showed positive result, with year prevalences of: 2017 (2.31% - 14/605), 2018 (1.04% - 2/193) and 2019 (0% - 0/67). In serology, 55.18% (7073/12816) showed IgG antibodies against *T. vivax*, with titers ranging from 80 to 1280. The prevalence of positive samples for the years 2017, 2018 and 2019 were respectively: 76.62%, 53, 84%, 36.40%. In this context, we concluded in the present study that animals that showed clinical suspect case of trypanosomiasis were in contact with the agent and there was a decline in animals that showed the acute phase of bovine trypanosomiasis in the analyzed regions.

Keywords: *Trypanosoma vivax*, Epidemiology, Diagnosis, *Bos taurus*, Immunofluorescence, Immune Response

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: *Trypanosoma vivax* em esfregaço de sangue de bovino (100x). Núcleo (seta preta) e cinetoplasto (cabeça da seta) e flagelo (seta branca)16
- Figura 2: Fases do ciclo biológico africano de *Trypanosoma vivax* no hospedeiro intermediário (mosca tsé-tsé) e no hospedeiro vertebrado (ruminante)17
- Figura 3: Prevalência de tripomastigostas de *T. vivax*, no teste de BCT em amostras de sangue de bovinos com suspeita clínica da doença encaminhadas ao HVU entre os anos de 2017 a 2019 (A) e por ano analisado (B)31
- Figura 4: Total de prevalência de anticorpos anti-*T. vivax* em amostras de sangue de bovinos enviadas ao HVU e submetidas ao teste sorológico (A) e sua distribuição em cada ano no período entre 2017 e 2019 (B).....34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Prevalência de amostras positivas para tripomastigotas em sangue bovino enviado ao Hospital Veterinário de Uberaba nos anos de 2017, 2018 e 2019 submetidas a análise pelo método de BCT em relação ao sexo, idade e raça...32
- Tabela 2: Prevalência de amostras positivas em sangue de bovinos enviados ao HVU para exame de BTC nos anos de 2017 a 2019 de acordo com a região de origem.....33
- Tabela 3: Prevalência de acordo com a titulação das amostras de sangue enviadas ao Hospital Veterinário de Uberaba para teste de imunofluorescência indireta (IFI), no período entre 2017 e 2019 35
- Tabela 4: Amostras de sangue bovino envidas ao Hospital Veterinário entre 2017 e 2019 submetidas ao exame de IFI distribuídas de acordo com ao sexo, idade e raça durante os anos de 2017 a 201936
- Tabela 5: Prevalência para pesquisa de anticorpos anti-*T. vivax* pelo método de IFI em amostras sangue de bovinos enviadas para o Hospital Veterinário de Uberaba durante os anos de 2017 a 2019..... 37

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BCT	Buffy Coat Technique
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
°C	Graus Celsius
IFI	Imunofluorescência Indireta
µg	Micrograma
MG	Minas Gerais
MHCT	Técnica do Microhematócrito
PCR	Reação de em Cadeia da Polimerase
T. vivax	Trypanosoma vivax

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1. ETIOLOGIA E CICLO DE VIDA DA TRIPANOSSOMÍASE BOVINA	15
2.2. EPIDEMIOLOGIA.....	18
2.3. SINAIS CLÍNICOS.....	21
2.4. DIAGNÓSTICO.....	22
2.4.1. Testes Parasitológicos	23
2.4.2. Testes Sorológicos.....	24
2.4.3. Testes Moleculares	25
2.5. TRATAMENTO.....	25
3. OBJETIVOS	27
3.1. OBJETIVO GERAL.....	27
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1. NORMAS ÉTICAS	28
4.2. LOCAL DE REALIZAÇÃO	28
4.3. ANIMAIS EXPERIMENTAIS	28
4.4. PESQUISA PARASITOLÓGICA.....	28
4.5. PESQUISA SOROLÓGICA	29
4.6. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	30
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
5. RESULTADOS	31
5.1. PARASITOLÓGICO.....	31
5.2. SOROLÓGICO	33
6. DISCUSSÃO.....	38
7. CONCLUSÕES.....	41
8. REFERÊNCIAS.....	44
9. ANEXO 1.....	52

1. INTRODUÇÃO

Tripanossomíase bovina é uma enfermidade causada pelo *Trypanosoma vivax* (GUTIÉRREZ et al., 2013). No Brasil, vetores mecânicos são responsáveis por sua transmissão como as moscas *Stomoxys calcitrans* e *Hematobia irritans* (DAGNACHEW; BEZIE, 2015).

É considerada uma doença de distribuição mundial (DAGNACHWE; BEZIE, 2015) que gera grandes perdas econômicas (CADIOLI et al., 2012) devido à morte de cerca de três milhões de bovinos anualmente em países africanos e na América do Sul (OSÓRIO et al., 2008).

Segundo Bastos et al. (2020) a aptidão do animal, a idade, a introdução recente de animais, uso compartilhado de agulhas em vacas leiteiras para aplicação de ocitocina são fatores epidemiológicos de risco e foram correlacionadas positivamente à presença de *T. vivax* no rebanho.

A produção de bovinos é afetada por conta de sinais clínicos como perda progressiva de peso, diminuição da fertilidade e da produção de carne e leite, e morte dos animais (DELAFOSSSE et al., 2006). O impacto causado na reprodução também é importante, pois, em machos observa-se perda da libido, retardamento da puberdade e má qualidade do sêmen e em fêmeas acarreta anestro temporário ou permanente, ciclos estrais anormais, morte fetal, distocia, abortamento, morte neonatal (SILVA et al., 2004).

Os animais infectados por *T. vivax*, na fase aguda e subaguda da doença, podem apresentar febre, anemia, fraqueza, emagrecimento progressivo, lacrimejamento, conjuntivite, síndromes hemorrágicas, inapetência, diarreia, imunossupressão e abortamento (GAUNT, 2000; SILVA et al., 2004; CARVALHO et al., 2008; ALMEIDA et al., 2010). Também podem ocorrer sinais neurológicos como ataxia, tremores musculares, cegueira (BATISTA et al., 2008). Os animais que desenvolvem a fase crônica da doença geralmente apresentam quadro assintomático que dificulta o diagnóstico e leva os animais ao estado de portador/reservatório da infecção (LINHARES et al., 2006; BATISTA et al., 2007; BATISTA et al., 2008; GARCIA et al., 2016). Em bovinos infectados experimentalmente, a fase de parasitemia ficou evidente 12 dias após a infecção com pico de parasitemia no 18º dia. Logo em seguida, observou-se menor parasitemia e aumento na produção de anticorpos IgG, indicativo de fase crônica. Porém, mesmo com a produção de anticorpos houve recidivas de parasitemia (BASSI, 2014).

Neste contexto, o diagnóstico da doença pode ser realizado através da avaliação clínica, exames hematológicos, técnica parasitológica como *Buffy coat* (BCT) (SILVA et al., 2002), a sorologia por imunofluorescência indireta (IFI) (DESQUESNES; TRESSE, 1996; CORTEZ et al., 2009), ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) (SILVA et al., 2002; GONZATTI et al., 2014) e testes moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (GONZALEZ et al., 2003) e amplificação isotérmica de DNA mediada por *loop* (LAMP) (GONZATTI et al., 2014).

Estes testes têm sido utilizados para realizar estudos epidemiológicos em várias regiões do Brasil (MENESES, 2016). Estudo na microrregião de Uberaba, no período de 2009 a 2010 relevou que 100,0% dos animais estudados apresentaram resultado negativo ao teste parasitológico e apenas 21,10% foram reagentes em teste sorológico (FRANGE et al., 2012). Posteriormente, o mesmo grupo de pesquisa, realizou levantamento sorológico por IFI observou-se prevalência de anticorpos anti-*T. vivax* de 15,10% (35/231) em 2013, 31,20% (184/589) em 2014 (dados não publicados) e nos anos de 2015 e 2016 a prevalência no BCT foi de 5,96% e no exame sorológico foi de 78,84% e (SILVA, 2018).

Em 2016 foi liberado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a comercialização do Cloreto de Isometamidium, medicação específica para o tratamento da tripanossomíase que pode ser utilizada tanto de forma terapêutica quanto profilática (BASTOS et al., 2017). Há relatos sobre o uso do medicamento para tratamento e de forma preventiva em outras regiões do mundo (MULANDANE et al., 2018; DEGNEHA et al., 2019). Esta é a provável causa da existência de cepas do protozoário que não respondem de forma eficiente ao tratamento. Dessa forma novas pesquisas estão sendo realizadas com propósito de encontrar novas diaminas com ação contra *T. vivax* (GILLINGWATER et al., 2017).

Antes da liberação do uso do Cloreto de Isometamidium, a sorologia apresentava valores crescentes nos animais da microrregião de Uberaba, MG. Atingiu o pico de 78,84% (5104/6474) em 2016 (SILVA, 2018), ano em que foi liberada comercialização do medicamento tripanocida no Brasil (BASTOS et al., 2017). A partir de então, observou-se negatividade sorológica dos animais com suspeita clínica da doença, levando a pensar sobre a questão do tratamento profilático não criterioso com este fármaco.

Neste contexto o presente trabalho objetivou avaliar os perfis parasitológico e sorológico dos animais com suspeita clínica da doença e observar a epidemiologia da tripanossomíase bovina após a liberação do uso do Cloreto de Isometamidium.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ETIOLOGIA E CICLO DE VIDA DA TRIPANOSSOMÍASE BOVINA

As tripanossomíases são doenças causadas pelo hemoparasito pertencente ao gênero *Trypanosoma*, do filo Euglenozoa, classe Mastigophora, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e subordem Trypanosomatina (HOARE, 1972; GARDINER, 1989).

Trypanosoma vivax pertence ao grupo salivaria (HOARE, 1972) e ao subgênero *Dutonella*. Neste caso, a transmissão é realizada pela saliva dos vetores invertebrados hematófagos. Quando está na corrente sanguínea dos hospedeiros vertebrados, a multiplicação ocorre de forma assexuada por fissão binária (SILVA et al., 2002). Portanto, a forma tripomastigosta é encontrada unicamente na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado (DABUS; CAMPOS; NEVES, 2011).

T. vivax é um protozoário pleomórfico, com o corpo alongado e achatado. As extremidades são afiladas e apresenta um grande cinetoplasto pós-nuclear. O flagelo está localizado próximo ao cinetoplasto e ao lado do corpo (Fig. 1) (DÁVILA et al., 1997). Quando comparado com as outras espécies patogênicas, *T. vivax* apresenta o maior cinetoplasto. Tal fato tem relevância para o diagnóstico, pois facilita a identificação em esfregaços de sangue periférico (HOARE, 1972).



Figura 1: *Trypanosoma vivax* em esfregaço de sangue de bovino (100x). Núcleo (seta preta) e cinetoplasto (cabeça da seta) e flagelo (seta branca).

Fonte: Sales, 2021

A membrana ondulante do *T. vivax* é mais desenvolvida em comparação ao *T. congolense* e inferior ao do *T. brucei*. Apresenta também um flagelo livre que está sempre presente (OSÓRIO et al., 2008).

O ciclo de vida do *T. vivax* (Figura 2) envolve hospedeiro invertebrado (vetor biológico), a mosca do gênero *Glossina*, conhecida como tsé-tsé, considerada hospedeira intermediária que realiza a transmissão cíclica da enfermidade e um hospedeiro vertebrado que geralmente são os mamíferos ungulados (OSÓRIO et al., 2008). Essa é a forma cíclica da doença e essa espécie de transmissor fica restrita à África (MATTIOLI; WILSON, 1996).

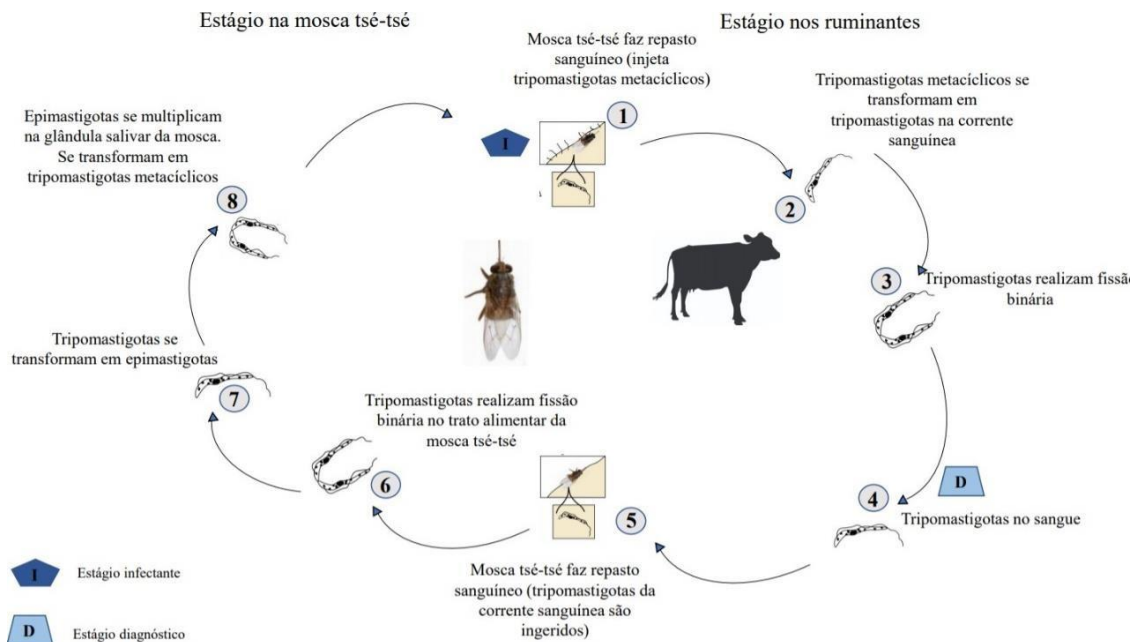


Figura 2: Fases do ciclo biológico africano de *Trypanosoma vivax* no hospedeiro intermediário (mosca tsé-tsé) e no hospedeiro vertebrado (ruminante).

Fonte: Adaptado de Baral (2010)

O início do ciclo é marcado pelo repasto sanguíneo realizado pela mosca tsé-tsé, no qual é inoculada a forma infectante do parasita, metatripanosomas. No hospedeiro vertebrado ocorre a passagem para forma tripomastigota, e na circulação sanguínea a multiplicação ocorre de forma assexuada por fissão binária (OSÓRIO et al., 2008). As formas tripomastigotas são ingeridas pela mosca e se transformam em epimastigotas no esôfago e faringe. Após 24 horas, há migração em direção à hipofaringe da mosca e intensa multiplicação nas glândulas salivares. Ocorre transformação na forma tripomastigotas novamente e posteriormente na forma infectante, chamada de tripomastigota metacíclica ou metatripanosoma (SILVA et al., 2002). Ainda tratando-se do continente Africano, a transmissão pode ocorrer também por outros dípteros hematófagos o que possibilita haver *T. vivax* em locais em que não se observa tsé-tsé. Experimento realizado na África, observou que as transmissões mecânica e cíclica podem coexistir (HOARE, 1972; DESQUENSES; DIA, 2004; DELAFOSSE et al., 2006; OSÓRIO et al., 2008).

Já em relação a América Latina, a transmissão ocorre de forma exclusivamente mecânica, através de moscas hematófagas do gênero *Tabanus* spp., conhecida como

mutuca, e *Stomoxys* spp., mosca dos estábulos. Nestes hospedeiros não ocorre a forma cíclica (SILVA et al., 2002; DESQUENSES, 2004).

É comum, em propriedades leiteiras, que se faça compartilhamento de agulhas na aplicação de ocitocina para estimular a ejeção de leite. Esta também é considerada transmissão mecânica (SILVA et al., 2002).

A forma transplacentária de transmissão da doença ainda é pouco investigada, porém foi evidenciada ao se constatar grande quantidade da forma tripomastigota no sangue de cordeiros, filhos de ovelhas inoculadas, 4 horas após o nascimento (LOSOS; IKEDE, 1974).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Acredita-se que a introdução do parasita na América do Sul tenha ocorrido por volta do ano de 1830 com a introdução de um bovino infectado provindo do Senegal (VENTURA et al., 2001; OSORÓRIO et al., 2008). No Brasil o primeiro registro de *T. vivax* foi em búfalos no Pará, no ano de 1972, no qual observou-se parasitemia baixa e cíclica (SHAW; LAINSON, 1972), sendo que, até então, o parasita ficava restrito ao norte do país. Pereira e Abreu (1978) relataram presença de tripanosoma em esfregaço sanguíneo de bovinos e ovinos nos estados do Pará e Amapá. No Tocantins, foi relatada a presença de *T. vivax* em animais da raça Brahman (LINHARES et al., 2006). Estudo epidemiológico mostrou a prevalência de anticorpos anti-*T. vivax* em animais de diferentes áreas do estado do Pará, com variação de 18,9% a 69,3% (MADRUGA et al., 2006). Ainda no Pará, região Nordeste do estado, foi relatada prevalência média de 93,1% nas vacas estudadas (GUEDES JÚNIOR et al., 2008).

Segundo estudo realizado no estado do Mato Grosso, na década de 1970, mais da metade dos animais apresentavam anticorpos contra o parasita (WELLS et al., 1977). Porém, a identificação de *T. vivax* ocorreu somente em 1995, quando houve um surto na região de Poconé, Pantanal do Mato Grosso, no qual 34,5% dos animais avaliados apresentaram testes positivos (LOSOS; IKEDE, 1972; SILVA et al., 1996). Em 1997 foi descrito caso em Miranda, no Mato Grosso do Sul (PAIVA et al., 1997). Ao avaliar a soroprevalência no Pantanal, Mato Grosso, Madruga et al. (2006), observaram soroprevalência de 28,1% a 71,9%. Houve o surto no estado do Mato Grosso, relatado

por Bastos et al. (2013) por conta de aplicação de ocitocina com mesma agulha para todos os animais. Nesse relato, de 12 animais testados com exame direto, o parasita foi observado em esfregaço sanguíneo em 3 animais (BASTOS et al., 2013). Já em Goiás, a introdução de vacas provenientes de Minas Gerais, foi a provável causa do surto. O diagnóstico foi realizado através de teste parasitológico e PCR e houve resultado positivo para 55, de um total de 161 vacas (BASTOS et al., 2017).

No Nordeste do Brasil, o primeiro caso relatado foi no estado da Paraíba em 2002, descrito por Batista et al. (2007) no qual 49,2% das vacas estudadas foram acometidas e a taxa de letalidade foi de 17,2%. Outros dois surtos foram relatados na Paraíba (BATISTA et al., 2008). Em 2012 a prevalência de *T. vivax* em bezerros variou de 63,3% a 80,0% sendo esses de três propriedades diferentes (BATISTA et al., 2012). Apesar dos surtos relatados, o parasita aparentemente não está disseminado no estado da Paraíba, pois Costa et al. (2013) realizaram estudo no qual comprovou-se que não havia evidência sorológica em bovinos avaliados em 37 propriedades. O parasita foi identificado em bezerros no estado do Maranhão em surto descrito por Guerra et al. (2008). Estudo realizado com gado leiteiro em Pernambuco, comprovou que 9,09% dos animais foram confirmados por teste parasitológico e 27,5% por meio da técnica de PCR (PIMENTEL et al., 2012). Levantamento realizado por Vieira et al. (2017), em bovinos leiteiros no estado de Sergipe, no município de São Miguel Aleixo, detectou presença de *T. vivax* em 35% (5/15) dos esfregaços sanguíneos, 60% (9/15) pelo método de *Buffy Coat* e 80% (12/15) com PCR. Mais recentemente, no estado do Maranhão, comprovou-se através de exame sorológico que 82,51% (151/183) dos animais apresentaram anticorpos contra *T. vivax* (PEREIRA et al., 2018).

O primeiro caso relatado de tripanossomíase na região Sul do Brasil foi no estado do Rio Grande do Sul, em esfregaço sanguíneo de uma vaca com sinais clínicos da manifestação nervosa da doença (Silva et al., 2009).

Já na Região Sudeste do Brasil, o primeiro relato foi em Minas Gerais, no município de Igarapé, no qual vacas apresentaram perda da visão, anemia e baixo escore de condição corporal (CARVALHO et al., 2008). A situação epidemiológica no mesmo rebanho da vaca descrita no primeiro relato, foi observada ao longo de um ano e meio e 25 animais foram positivos para *T. vivax* (CUGLOVICI et al., 2010). A soroprevalência foi de 7,4% no início do estudo e 48% no final. No estado de São Paulo, o primeiro relato

de surto ocorreu no município de Lins, em bovinos leiteiros com mortalidade de 2,9% e das amostras séricas submetidas ao exame de ELISA, 98,36% delas foram positivas (CADIOLI et al., 2012). Outro levantamento realizado de forma experimental observou que a parasitemia mais intensa da doença ocorreu nos estágios iniciais de infecção e se manteve persistente no período de teste. Foram detectados parasitas circulantes por cerca de três meses (FIDELIS JUNIOR et al., 2016).

Em Minas Gerais há relatos da doença em bovinos de leite em Igarapé (CARVALHO et al., 2008), Veríssimo (CAMPOS et al., 2012), Água Comprida, Campo Florido, Conceição das Alagoas, Conquista e Delta (FRANGE et al., 2012). Também foi observada prevalência sorológica de 3,05% no Triângulo Mineiro e 3,03% no Alto do Paranaíba no qual comprovou-se que apesar da baixa prevalência da tripanossomíase em Minas, a doença já se apresentava distribuída de forma homogênea (MENESES, 2018). Em trabalho mais recente, observou-se que de 30 rebanhos testados, 11 apresentaram testes positivos para *T. vivax* na mesorregião do estado de Minas Gerais (REIS et al., 2019). Há relato de surto em Uberaba, com prevalência de 37,70% em teste parasitológico, nos animais estudados (BITTAR et al., 2006). Exames de sorologia e teste parasitológico realizados na microrregião de Uberaba revelou que 100% dos animais estudados apresentaram resultado negativo ao teste parasitológico e apenas 21,10% foram reagentes em teste sorológico. E, ainda, 79,90% dos animais nunca tiveram contato com esse agente, o que permite que haja surtos da doença (FRANGE et al., 2012).

A prevalência de casos positivos da doença foi relatada em estudo realizado no Hospital Veterinário de Uberaba, a partir de amostras recebidas para teste de imunofluorescência indireta (IFI) durante dois anos: observou-se que das 231 amostras testadas, em 2013, com exame de IFI, 15,10% foram positivos na detecção de anticorpos anti-*T. vivax*; em 2014 foi observado que das 589 amostras analisadas, 31,20% obtiveram resultado positivo (dados não publicados).

Outro levantamento realizado com amostras de sangue de bovinos enviados ao Hospital Veterinário de Uberaba nos anos de 2015 e 2016 observou que 5,96% (59/990) em teste parasitológico. Já os resultados positivos em exame sorológico, foi de 78,84% (5104/6474). Tal fato demonstra que os animais que apresentavam suspeita clínica de tripanossomíase tiveram contato com o agente etiológico. Isso permite o desenvolvimento

de resposta imune e conseqüentemente o aumento do número de casos da doença detectados sorologicamente e redução da parasitemia (SILVA, 2018).

Há alguns fatores que podem favorecer a ocorrência de surtos ou casos da doença nos diversos estados do Brasil. Fatores como aptidão do animal, a idade, a introdução recente de animais, uso compartilhado de agulhas em vacas leiteiras para aplicação de ocitocina são fatores epidemiológicos de risco e foram correlacionadas positivamente à presença de *T. vivax* no rebanho (BASTOS et al., 2020). Outro ponto a ser ressaltado é que, a presença de vetores em quantidade suficiente para que a transmissão mecânica seja eficiente na ocorrência da enfermidade e a presença de animais imunologicamente sensíveis ao parasito, podem aumentar os casos (MADRUGA, 2009; ALMEIDA et al., 2010).

Também deve-se levar em consideração a possível falta de conhecimento da enfermidade por parte dos médicos veterinários e proprietários podendo favorecer a alta incidência da doença, assim como a escassez de controle eficiente e de diagnóstico e uso de drogas tripanocidas de forma adequada (SILVA et al., 2004; TAMASAUKAS et al., 2014).

2.3 SINAIS CLÍNICOS

Após a infecção, a doença pode apresentar comportamentos como fases de parasitemia que variam em forma de picos no período da manhã e baixos níveis durante a tarde. Há também o período pré-patente da enfermidade que sofre influência da virulência do parasita. Há relatos de duração de nove a 14 dias para os isolados virulentos e de três a 59 dias para os isolados de menor virulência (HOARE, 1972; SCHENCK et al., 2001; HILL et al., 2005; ADAMU et al., 2007; OSÓRIO et al., 2008). Em caso de bovinos infectados experimentalmente, o período pré-patente apresentado sofreu variação de 11 a 16 dias ($13,80 \pm 1,78$) (BASSI, 2014).

Há três diferentes formas de desenvolvimento da doença. Na fase superaguda, os animais apresentam alta parasitemia de forma persistente, que pode levar o animal à morte em pouco tempo, até três semana após a infecção (ANDRIANARIVO et al., 1995). Na fase aguda da doença, os animais acometidos podem apresentar como principais sinais, a anemia, com hematócrito podendo apresentar valores abaixo de 20%, perda de peso e morte caso os animais não sejam devidamente tratados (LINHARES, et al., 2006;

DAGNACHEW; BEZIE, 2015). Os animais que desenvolvem a fase crônica da doença geralmente apresentam sinais como diminuição de hemácias, hemoglobina e hematócrito em relação aos parâmetros eritrocitários. Já no leucograma há aumento de leucócitos e linfócitos (BASSI, 2014). Os animais em que ocorre reincidência da doença com baixa parasitemia, a forma tripomastigosta pode ser encontrada em linfonodos, plexo coróide e humor aquoso, no líquido cefalorraquidiano (HOARE, 1972; BODA et al., 2009).

Vale ressaltar que os casos crônicos da doença são verdadeiro desafio para que sejam realizados o correto diagnóstico e tratamento adequado, pois esses quadros geralmente são assintomáticos (BATISTA et al., 2007).

A explicação para a cronicidade da doença está na habilidade do parasita atingir o sistema imune do hospedeiro, por meio de mudanças de padrões antigênicos externos, as glicoproteínas de superfície. Com esse mecanismo ocorre mudança na expressão das glicoproteínas de superfície para outra, o que resulta em mutação antigênica. Isso faz com que a resposta imune humoral do hospedeiro contra *T. vivax* seja ineficiente. É por conta desse mecanismo que ocorrem períodos de alta e baixa parasitemia, sendo esta a principal forma de impedimento da eliminação do parasita (BARAL, 2010). Os parasitas também apresentam outra forma eficiente de burlar o sistema imune do hospedeiro, por meio da internalização de anticorpos quando estes se ligam à sua superfície, funciona como uma evasão de forma eficiente do sistema imune (HILL et al., 2005).

A tripanotolerância pode ser observada nos animais assintomáticos, sendo esta característica genética. Ocorre um equilíbrio entre hospedeiro e parasita no qual não há manifestações clínicas por um longo período (VAN DEN BOSSCHE; ROWLANDS, 2001).

2.4 DIAGNÓSTICO

Há várias formas de se realizar o diagnóstico de *T. vivax*, com diferentes graus de sensibilidade e especificidade e o método de eleição é de acordo com a fase da doença. De forma geral, a associação entre o quadro clínico e técnicas parasitológicas, sorológicas e moleculares levam a estabelecer o diagnóstico de forma eficiente (MENESES, 2011).

As provas parasitológicas mais utilizadas, consideradas de fácil execução e rapidez são da gota espessa (SILVA et al., 2002), técnica do Microhematócrito ou Woo (WOO, 1970) e técnica do *Buffy Coat* (MURRAY et al., 1977).

Os testes sorológicos de eleição para o diagnóstico de tripanossomíase são a Imunofluorescência Indireta (IFI) e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimático (ELISA). E a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é o mais sensível (SILVA et al., 2002).

2.4.1 Testes Parasitológicos

Uma das técnicas mais utilizadas para teste direto ou parasitológico, é a técnica do microhematócrito (MHCT) na qual é possível visualizar a motilidade da forma tripomastigota entre as camadas de leucócitos e plasma no microtubo de hematócrito. Esta técnica permite a detecção de tripanosomas de seis a dez dias pós-infecção (WOO, 1970).

Há também outro método direto, denominado *Buffy Coat* (BCT), no qual realiza-se com a camada leucocitária do microtubo hematócrito em esfregaço sanguíneo, cora-se com corantes hematológicos e a leitura é realizada com auxílio de microscópio óptico, em objetiva de imersão (100x) sendo possível visualizar as formas tripomastigotas do parasita (MURRAY, 1977). Portanto ambas as técnicas são úteis nos estágios iniciais da doença, principalmente nos picos febris, pois correspondem ao pico de parasitemia (RADOSTITS et al., 2002). Foi relatada vantagem dessa técnica em relação às técnicas convencionais utilizados para o diagnóstico da tripanossomíase (DESQUESNES; TRESSE, 1996; MATTIOLI et al., 2001; DELAFOSSE et al., 2006), como por exemplo, a detecção de 50% mais casos de infecção por tripanosoma quando comparada ao MHCT (MURRAY, 1977).

As desvantagens deste exame direto é que a análise das amostras deve ser realizada no máximo até seis horas após a coleta (GÓMEZ-PIÑERES; TAVARES-MARQUES; REYNA-BELLO, 2009). Encontrar parasitas em esfregaços sanguíneos em fases crônicas da doença se torna difícil, uma vez que as formas amastigotas não ficam na circulação bem como também porque ocorrem flutuações da parasitemia (MURRAY, 1977; VENTURA et al., 2001).

2.4.2 Testes Sorológicos

A fase crônica da doença, que tem como característica principal a presença de animais assintomáticos, é a mais prevalente no Brasil. Sendo assim, a identificação do agente etiológico por meio dos métodos parasitológico é dificultada (VENTURA et al., 2001). Por isso, a realização de uma triagem com uso de exames sorológicos e titulação podem ser fonte complementar ao resultado obtido pelos métodos parasitológicos.

A detecção de anticorpos anti-*T. vivax* pode ser realizada com auxílio de duas técnicas principais: a imunofluorescência indireta (IFI) e o ensaio imunoenzimático (ELISA). Ambas técnicas sorológicas podem ser utilizadas para o diagnóstico de infecção e para investigações epidemiológicas, especialmente para a determinação da distribuição de *T. vivax* (MADRUGA et al., 2006).

Os testes sorológicos, IFI, como forma de identificação de anticorpos circulantes apresentam boa sensibilidade (AQUINO et al., 2010). A detecção de anticorpos circulante não significa que haja necessariamente uma infecção ativa, pois, essas moléculas persistem após a recuperação. As correlações positivas entre os resultados parasitológicos por BCT e a presença de anticorpos anti-*T. vivax*, têm sido relatadas até os 90 dias pós-infecção (MATTIOLI; FAYE; JAITNER, 2001; DELAFOSSE et al., 2006; BASSI, 2014). Porém, a desvantagem da técnica de IFI é a baixa especificidade, uma vez que, os antígenos utilizados são em sua maior parte antígenos brutos obtidos a partir de sangue de ovinos experimentalmente infectados (EISLER, et al., 1998; REBESKI et al., 1999; SILVA et al., 2002, MAGONA et al., 2008, PILLAY et al., 2013).

Estudo realizado por Fidelis Junior et al. (2019) observou que o teste de IFI detectou soropositividade em 94,4% (51/54) das amostras. E no teste de ELISA essa taxa foi de 90,7% (49/54).

O teste de ELISA apresenta especificidade mediana (DESQUESNES; GARDINER, 1993) e boa sensibilidade (DESQUESNES, 2004). Além do mais, quando se utiliza antígeno homólogo ou heterólogo, a sensibilidade é muito parecida, apesar de haver reações cruzadas entre as espécies e de *Trypanosoma* (DESQUESNES, 2004). Por outro lado, o uso de antígeno bruto demonstrou boas sensibilidade (97,6%) e especificidade (96,9%), bem como apresentou baixa reação cruzada com *T. evansi* sendo somente um positivo entre três bezerros submetidos ao teste (MADRUGA et al., 2006).

2.4.3 Testes Moleculares

A técnica de PCR teve uma contribuição importante na identificação, caracterização e diagnóstico molecular de tripanosomas em vários níveis taxonômicos com precisão e confiabilidade (DESQUESNES; DÁVILA, 2002). Para que seja realizada a identificação do parasita são utilizados *primers* direcionados no gene do *mini-exon* (*spliced leader*) e na região intergênica, com amplificação do produto de 210pb (VENTURA et al., 2001).

O teste de PCR convencional apresenta como desvantagem o fato de não ser tão eficaz quando há baixa parasitemia e também por ser inviável seu uso a campo em larga escala uma vez exige alto custo em laboratórios equipados, pessoal treinado e reagentes adequados (DÁVILA et al., 2003; OSÓRIO et al., 2008). Porém, a PCR demonstrou melhor taxa de detecção (61,1% - 33/54) que os métodos parasitológicos (44,4% - 24/54) em amostras sabidamente positivas (FIDELIS JUNIOR et al., 2019).

Outra técnica padronizada para a detecção de DNA foi a LAMP (amplificação isotérmica de DNA mediada por *loop*) que é realizada por meio de enzima que permite que sejam feitas rápidas amplificações em condições isotérmicas e tem como base sequências de DNA (GONZATTI et al., 2014). A capacidade de detecção de DNA de *T. vivax* é alta (NJIRU et al., 2011; SAMPAIO et al., 2017; NETO, 2018), inclusive nos períodos tidos como aparasitêmicos (CADIOLI et al., 2015). É capaz de detectar 1 tripomastigota/mL de sangue enquanto na PCR, há uma variação de 10 a 10³ parasitas/mL (NJIRU et al., 2011).

Desta forma a confirmação de tripanossomíase bovina em indivíduo ou rebanho requer a realização destes diagnósticos laboratoriais. A melhor escolha será de acordo com a fase clínica da doença (MENESES, 2016).

2.5. TRATAMENTO

O tratamento mais efetivo contra tripanossomíase é com uso de cloreto de isometamidium que pode causar benefícios como a diminuição da gravidade da doença, aumentar o volume globular dos animais e diminuir a incidência da doença, mesmo que

não haja eficácia em evitar novas infecções (CADIOLI et al., 2012; GONZATTI et al., 2014). Foi relatado que a atividade profilática do fármaco ocorre por conta do acúmulo no fígado, nos rins e no baço, e também conforme o local da aplicação, sendo liberada lentamente ao plasma (KINABO; BOGAN, 1988). A duração do efeito preventivo do fármaco tripanocida após a administração intramuscular em bovinos é estimada em dois a três meses e pode variar de acordo com fatores como: a formulação; a dosagem; a estirpe do parasita; susceptibilidade da raça; estado geral de saúde do animal (KINABO; BOGAN, 1988; TORO et al., 2006).

Neste contexto, os produtores acabam utilizando o medicamento de forma preventiva. Assim, por não haver uma variedade de drogas eficazes contra o *T. vivax*, a resistência a fármacos tripanocidas, como cloreto de isometamidium, foi relatada em trabalho realizado por Dagnachew e Bezie (2015), por conta do uso de forma indiscriminada e profilática. Portanto, torna-se uma ameaça para o controle da doença. É de extrema importância que se estabeleça o diagnóstico com base em testes confirmatórios para identificar o agente e evitar assim que haja resistência aos antiparasitários e que seja feito uso racional dos mesmos, permitindo eficiente tratamento ou profilaxia da doença (STEVENSON et al., 2000; DESQUESNES, 2004; SOW et al., 2012; FRANGE, 2013).

Estudo experimental realizado com objetivo de comparar os medicamentos existentes no mercado para combater às infecções por *T. vivax* observou que a dose de 0,5 mg/kg de cloreto de isometamidium foi eficaz no tratamento. Quando a dose do mesmo medicamento foi de 1,0 mg/kg não houve identificação do parasita no sangue mesmo após a reinfeção realizada. E ainda, ao ser utilizada associação de diaceturato de diminazene com cloreto de isometamidium, houve eficácia de 100% (BASTOS et al., 2020).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo sorológico, parasitológico e epidemiológico da tripanossomíase por *T. vivax* em bovinos com suspeita clínica da doença encaminhadas ao Hospital Veterinário de Uberaba após a liberação do uso do isometamidium (2017 a 2019).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os perfis parasitológico e sorológico de bovinos com suspeita clínica de tripanossomíase por *T. vivax*, após a liberação do uso do isometamidium, no período de 2017 a 2019;
- Determinar a prevalência parasitológica e/ou sorológica da doença em relação a alguns parâmetros epidemiológicos (sexo, idade, raça, região e época do ano) dos animais com suspeita clínica de tripanossomíase por *T. vivax*, após a liberação do uso do cloreto de isometamidium, no período de 2017 a 2019;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 NORMAS ÉTICAS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Uberaba sob o número de processo 016/2017 (ANEXO A).

4.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Patologia Clínica e Medicina Veterinária Preventiva situados no Hospital Veterinário de Uberaba, Uberaba, Minas Gerais.

4.3 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

No período compreendido entre 2017 e 2019, 12875 amostras de sangue de bovinos foram encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba para análise parasitológica e sorológica. Desse total, 0,46% (59/12875) foram requisitadas para pesquisa parasitológica (BCT), 93,28% (12010/12875) para pesquisa de anticorpos (IFI) e 6,26% tiveram solicitação para que fossem realizados ambos os testes (806/12875).

Para a apresentação dos resultados parasitológicos e sorológicos foram utilizados o total referente aos exames únicos (parasitológico ou sorológico) acrescidos do total dos exames associados (parasitológico e sorológico). Assim o total de amostras considerada na pesquisa parasitológica foi de 865 e para a sorologia de 12.816.

4.4 PESQUISA PARASITOLÓGICA

A pesquisa parasitológica foi realizada em amostras de sangue colhidas em tubos a vácuo com anticoagulante (EDTA) (BD-Vacutainer, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda, Juiz de Fora, MG., Brasil) encaminhadas ao Hospital Veterinário de Uberaba no período de 2017 a 2019 e avaliadas pelo BCT, segundo a técnica descrita por Murray (1977) para detectar a presença da forma tripomastigota. A técnica consistiu no

preenchimento de tubo capilar de vidro para cada amostra de sangue, centrifugação a 10000g (Celm, MH Equipamentos para Laboratórios Ltda, São Paulo, SP., Brasil) por cinco minutos. Após, foi realizado o esfregaço a partir da amostra obtida de um capilar, quebrando o tubo na fração entre a camada líquida (plasma) e a camada leucocitária. Posteriormente, o esfregaço foi corado com Panótico Rápido (Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda, Pinhais, PR., Brasil). Os esfregaços sanguíneos corados, puderam ser observados em aumento 1000x por microscopia óptica (Nikon do Brasil Ltda, São Paulo, SP., Brasil) em busca das formas tripomastigotas de *T. vivax*.

4.5 PESQUISA SOROLÓGICA

A pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. vivax* foi realizada em amostras de sangue em tubo de coleta a vácuo (BD Vacutainer) sem anticoagulante e encaminhadas ao Hospital Veterinário de Uberaba, no período de 2017 a 2019, por imunofluorescência indireta (IFI). Após o recebimento, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica e imediatamente processadas.

Com o auxílio da centrífuga (Fanem Ltda, Guarulhos, SP., Brasil) as amostras foram centrifugadas em velocidade de 2000 g a temperatura ambiente (TA) por 10 minutos para obtenção dos soros que foram transferidos e acondicionados em tubos de polipropileno de 2,5 ml (Eppendorf do Brasil Ltda, São Paulo, SP., Brasil) devidamente identificados e mantidos a temperatura de -20° C até a realização da IFI.

Foi realizado o teste de IFI para detectar anticorpos IgG anti- *T. vivax* conforme metodologia descrita por Frange (2013). 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 em solução tampão fosfato salina (PBS) (Na₂HPO₄ 10mM; KH₂PO₄ 1,8mM; H₂O qsp; KCL 2,7mM; NaCl 140mM e pH 7,5) nas proporções 80, 160, 320, 640 e 1280. Então, foram distribuídos nas lâminas contendo o antígeno (tripomastigotas fixadas em acetona PA) e incubadas por 30 minutos à 37°C. Em seguida, foram realizadas três imersões durante cinco minutos cada uma delas em PBS e posteriormente secagem à temperatura ambiente. Foi adicionado o conjugado anti-IgG de bovino marcado com Isotiocianato de Fluoresceína (Sigma-Aldrich Brasil Ltda, Cotia, SP., Brasil) 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. Foram realizadas novamente três imersões de cinco minutos em PBS e secagem em temperatura ambiente. Posteriormente, as lâminas foram cobertas com 10 µL de glicerina tamponada (Glicerina 90%, Na₂CO₃ 0,5 mM, NaHCO₃ 0,5 mM pH 8,0-8,5) para cada amostra e coberta por uma lamínula. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de epifluorescência (Nikon do Brasil Ltda, São Paulo, SP., Brasil), em aumento de 400x. Foram consideradas positivas as reações com fluorescência com títulos $\geq 1:80$ (GARCÍA et al., 2006).

Soros de bovinos naturalmente infectados com *T. vivax* foram utilizados como controles positivo e soro de bovinos negativo na diluição 1:80 e solução de PBS 1:10 como controle de reação (Branco).

4.6 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Os dados epidemiológicos como raça, idade, sexo, localidade e sazonalidade foram obtidos a partir dos dados cadastrais, disponíveis no acervo digital do sistema específico do Hospital Veterinário de Uberaba.

Para que a interpretação dos dados fosse melhor realizada, os mesmos foram organizados de forma que as idades foram tabuladas em meses da seguinte forma: 0-12; 13-24; 25- 36; acima de 36 e não especificado. Já em relação a localidade foi realizada uma estratificação em onze categorias: Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Sul e Sudoeste de Minas, Noroeste de Minas, Oeste de Minas, Sudeste de Minas, Leste de Minas, Nordeste de Minas, Interior de São Paulo, Região Sul do Brasil, Brasília e Não Especificado. E os meses do ano foram agrupados, de acordo com a época de chuva e seca.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação entre os percentuais de positividade, considerando-se os anos, sazonalidade, sexo, faixa etária, raça e município, foi realizada por meio do Qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$) utilizando software R Core Team (2015).

5. RESULTADOS

5.1 PARASITOLÓGICO

Das 865 amostras encaminhadas ao HVU para pesquisa parasitológica por BCT, 1,85% (16/865) apresentaram resultado positivo (Fig. 3A). Analisando o percentual de amostras positivas por ano, não se observou diferença significativa entre 2017 (2,31% - 14/605), 2018 (1,04% - 2/193) e 2019 (0% - 0/67) ($P>0,05$) (Fig. 3B).

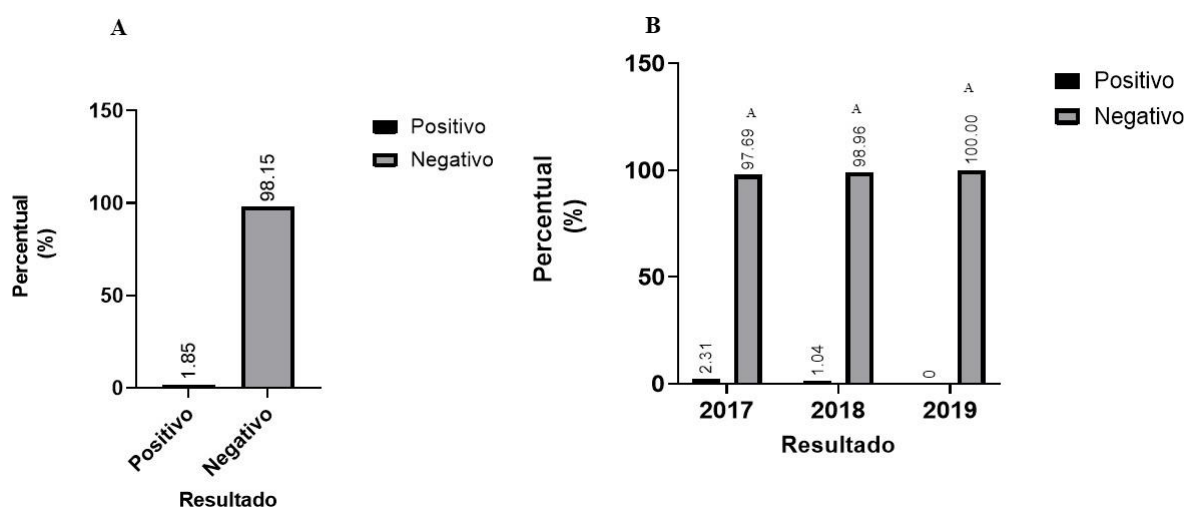


Figura 3: Prevalência de tripomastigostas de *T. vivax*, no teste de BCT em amostras de sangue de bovinos com suspeita clínica da doença encaminhadas ao HVU entre os anos de 2017 a 2019 (A) e por ano analisado (B).

Em relação ao sexo pode-se observar que não houve diferença significativa ($P>0,05$) quando analisado dentro de cada ano e no total de dados. Já entre os anos, notou-se que a prevalência de fêmeas com resultado positivo no BCT diminuiu ao longo dos anos analisados ($P<0,05$) (Tab. 1). O fato idade não apresentou diferença significativa ($P>0,05$) na análise estatística em relação ao teste parasitológico (Tab. 1). Notou-se que a prevalência da doença foi superior nos Mestiços em 2017 e 2018 ($P<0,05$), e houve aumento significativo da prevalência em 2018 quando comparado com 2017 ($P<0,05$) (Tab. 1).

Tabela 1: Prevalência de amostras positivas para tripomastigotas em sangue bovino enviado ao Hospital Veterinário de Uberaba nos anos de 2017, 2018 e 2019 submetidas a análise pelo método de BCT em relação ao sexo, idade e raça.

Caracterização amostral	Prevalência (% / N ^o de positivos)			
	2017	2018	2019	TOTAL
Sexo				
Fêmea	3,45% (11/318) ^{Aa}	1,94% (2/103) ^{Ab}	0% (0/51) ^{Ac}	2,75% (13/472) ^A
Macho	0% (0/8) ^{Aa}	0% (0/8) ^{Aa}	0% (0/3) ^{Aa}	0% (0/19) ^A
Não especificado	1,07% (3/279) [*]	0% (0/82) [*]	0% (0/13) [*]	0,80% (3/374) [*]
Total	2,31% (14/605)	1,04% (2/193)	0% (0/67)	1,85% (16/865)
Idade				
0-12	0% (0/6) ^{Aa}	0% (0/1) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	0% (0/7) ^A
13-24	0% (0/2) ^{Aa}	0% (0/2) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	0% (0/4) ^A
26-36	0% (0/18) ^{Aa}	0% (0/17) ^{Aa}	0% (0/1) ^{Aa}	0% (0/36) ^A
>36	0% (0/11) ^{Aa}	20,00% (1/5) ^{Aa}	0% (0/1) ^{Aa}	5,88% (1/17) ^A
Não especificado	2,46% (14/568) [*]	0,59% (1/168) [*]	0% (0/65) [*]	1,87% (15/801) [*]
Total	2,31% (14/605)	1,04% (2/193)	0% (0/67)	1,85% (16/865)
Raça				
Mestiça	2,70% (3/111) ^{Ab}	8,33% (2/24) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	3,70% (5/135) ^A
Girolando	2,34% (10/427) ^{Aa}	0% (0/106) ^{Aa}	0% (0/31) ^{Aa}	1,77% (10/564) ^A
Holandesa	2,33% (1/43) ^A	0% (0/19) ^{Aa}	0% (0/2) ^{Aa}	1,56% (1/64) ^A
Gir	0% (0/10) ^{Aa}	0% (0/10) ^{Aa}	0% (0/16) ^{Aa}	0% (0/36) ^A
Guzerá	0% (0/1) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	0% (0/0) [*]	0% (0/1) ^A
Guzolando	0% (0/1) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	0% (0/0) [*]	0% (0/1) ^A
Jersey	0% (0/0) [*]	0% (0/9) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	0% (0/9) ^A
Nelore	0% (0/12) ^A	0% (0/24) ^{Aa}	0% (0/18) ^{Aa}	0% (0/54) ^A
Sindi	0% (0/0) [*]	0% (0/1) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	0% (0/1) ^A
Total	2,31% (14/605)	1,04% (2/193)	0% (0/67)	1,85% (16/865)

Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os parâmetros analisados. Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os parâmetros analisados.

*Os parâmetros não especificados ou desconhecimentos foram omitidos da análise comparativa, assim como as categorias que apresentaram baixas frequências esperadas

Dentre as regiões que enviaram amostras para teste parasitológico, Noroeste de Minas apresentou maior prevalência no ano de 2017 e no total ($P < 0,05$) e Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) no ano de 2018 comparado as demais regiões, sendo estas superiores no que tange a prevalência parasitológica (Tab. 2). Já em relação ao período do ano, a época referente aos meses chuvosos apresentou mais casos da doença ($P < 0,05$) (3,39%) entre os anos de 2017 e no total de dados comparado ao período seco (Tab. 2).

Tabela 2: Prevalência de amostras positivas em sangue de bovinos enviados ao HVU para exame de BTC nos anos de 2017 a 2019 de acordo com a região de origem.

Caracterização amostral	Prevalência (%/N° positivos)				
	Região	2017	2018	2019	Total
Noroeste de Minas		25,0% (1/4) ^A	0% (0/0) [*]	0% (0/0) [*]	25% (1/4) ^A
Triâng. Min. e Alto Paranaíba		3,2% (13/404) ^{Bb}	1,15% (2/174) ^{Aa}	0% (0/49) ^{Aa}	2,39% (15/627) ^B
Sul e Sudoeste de Minas		0% (0/7) ^{Ca}	0% (0/0) [*]	0% (0/0) [*]	0% (0/7) [*]
Sudeste de Minas		0% (0/4) ^{Ca}	0% (0/18) ^{Ba}	0% (0/0) [*]	0% (0/22) [*]
Interior de São Paulo		0% (0/178) ^{Ca}	0% (0/0) [*]	0% (0/0) [*]	0% (0/178) [*]
Região Sul do Brasil		0% (0/0) [*]	0% (0/1) ^{Ba}	0% (0/18) ^{Aa}	0% (0/19) [*]
Brasília		0% (0/8) ^{Ca}	0% (0/0) [*]	0% (0/0)	0% (0/8) [*]
Total		2,31% (14/605)	1,04% (2/193)	0% (0/67)	1,85% (16/865)
Época					
Águas		3,9% (12/305) ^{Aa}	0,8% (1/112) ^{Aa}	0% (0/67) ^a	2,6% (13/489) ^A
Secas		0,6% (2/300) ^{Ba}	1,2% (1/81) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	0,7% (3/385) ^B
Total		2,31% (14/605)	1,04% (2/193)	0% (0/67)	1,85% (16/865)

Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os parâmetros analisados. Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os parâmetros analisados.

*Os parâmetros não especificados ou desconhecimentos foram omitidos da análise comparativa, assim como as categorias que apresentaram baixas frequências esperadas

5.2 SOROLÓGICO

Das 12.816 amostras encaminhadas ao HVU para pesquisa sorológica por IFI, 55,19% (7073/12816) apresentaram anticorpos de anticorpos anti *T. vivax* (Fig. 4A). Em relação a porcentagem de amostras positivas entre os anos, observou-se que houve diferença significativa (P<0,05) e a maior prevalência foi em 2017 (76,63% - 2105/2747), seguida do ano de 2018 (53,84%-4022/7470) e com menor prevalência no ano de 2019 (36,40%-946/2599) (Figura 4B).

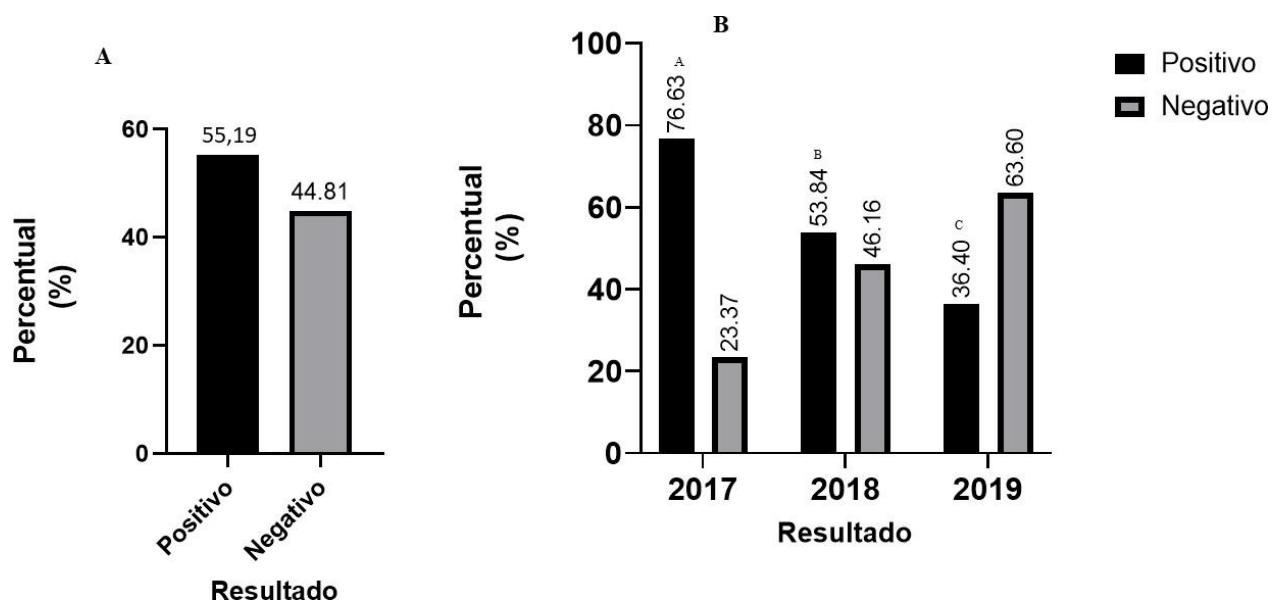


Figura 4: Total de prevalência de anticorpos anti-*T. vivax* em amostras de sangue de bovinos enviadas ao HVU e submetidas ao teste sorológico (A) e sua distribuição em cada ano no período entre 2017 e 2019 (B).

A análise da frequência dos títulos sorológicos permite observar que em 2017 o título de 160 e 80 foram os mais prevalentes ($P < 0,05$) e em 2018, o mais prevalente foi a titulação de 80 comparado aos demais títulos (Tab. 3). Todos os títulos diminuíram ao longo dos anos e a prevalência de animais não reagentes aumentou de 2017 a 2019 ($P < 0,05$) (Tab. 3).

Tabela 3: Prevalência de acordo com a titulação das amostras de sangue enviadas ao Hospital Veterinário de Uberaba para teste de imunofluorescência indireta (IFI), no período entre 2017 e 2019.

Variáveis	Títulos sorológicos						Total
	Não reagente	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	
Ano							
2017	642	573	623	419	227	263	
%	23,37% ^{Ca} (642/2747)	20,86% ^{Bb} (573/2747)	22,68% ^{Aab} (623/2747)	15,25% ^{Ac} (419,2747)	8,26% ^{Ad} (227/2747)	9,57% ^{Ad} (263/2747)	2747
2018	3448	1772	1422	677	107	44	
%	46,16% ^{Ba} (3448/7470)	23,72% ^{Ab} (1772/7470)	19,04% ^{Bc} (1422/7470)	9,06% ^{Bd} (677/7470)	1,43% ^{Be} (107/7470)	0,59% ^{Ce} (44/7470)	7470
2019	1653	524	270	80	37	35	
%	63,60% ^{Aa} (1653/2599)	20,16% ^{Cb} (524/2599)	10,39% ^{Cb} (270/2599)	3,08% ^{Cc} (80/2599)	1,42% ^{Bd} (37/2599)	1,35% ^{Bd} (35/2599)	2599
Total	5.743	2.869	2.315	1.176	371	342	

Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os parâmetros analisados.
 Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os parâmetros analisados.
 *Os parâmetros não especificados ou desconhecimentos foram omitidos da análise comparativa, assim como as categorias que apresentaram baixas frequências esperadas

Do total de dados referentes ao exame sorológico, não houve diferença significativa entre machos e fêmeas em todos os anos analisados (P>0,05). Porém, ao analisarmos o total de dados, notou-se diferença significativa (P<0,05) na prevalência de fêmeas 55,7% (Tabela 4). Quando analisado os dados por ano dentro de sexo, observou-se que tanto machos como fêmeas tiveram diminuição na prevalência de positivos ao longo dos anos (P<0,05).

Não houve diferença significativa entre as idades analisadas (P>0,05), porém, houve diminuição significativa (P<0,05) na comparação entre os anos analisados em todas as idades (Tabela 4). Notou-se que houve efeito de raça, ou seja, animais da raça Guzerá, Guzolando, Girolando, Mestiços, Holandesa e Nelore foram as mais prevalentes no ano de 2017 (P<0,05). No ano de 2018, Sindi e Aberdeen Angus tiveram maior prevalência (P<0,05) e em 2019, a predominância sorológica foi da raça Holandesa e Girolando (P<0,05).

Tabela 4: Amostras de sangue bovino enviadas ao Hospital Veterinário entre 2017 e 2019 submetidas ao exame de IFI distribuídas de acordo com ao sexo, idade e raça durante os anos de 2017 a 2019.

Caracterização amostral	Prevalência (% / N ^o de positivos)				
	Sexo	2017	2018	2019	TOTAL
Fêmea		80,1% (1349/1684) ^{Aa}	54,3% (3753/6900) ^{Ab}	39,7% (794/1999) ^{Ac}	55,7% (5896/10583) ^A
Macho		85,7% (18/21) ^{Aa}	58,0% (36/62) ^{Ab}	31,5% (23/73) ^{Ac}	49,3% (77/156) ^B
Não especificado		70,8% (738/1042)*	45,8% (233/508)*	24,4% (129/527)*	52,9% (1100/2077)*
Total		76,7% (2105/2747)	53,8% (4022/7470)	36,4% (946/2599)	55,1% (7073/12816)
Idade					
0-12		100% (6/6) ^{Aa}	33,3% (2/6) ^{Ab}	0% (0/2) ^{Ab}	57,14% (8/14) ^A
13-24		83,3% (5/6) ^{Aa}	25,0% (1/4) ^{Ab}	0% (0/0) ^{Ab}	60,00% (6/10) ^A
25-36		77,2% (34/44) ^{Aa}	52,1% (12/13) ^{Ab}	0% (0/1) ^{Ab}	67,65% (46/68) ^A
>36		80,0% (44/55) ^{Aa}	66,6% (8/12) ^{Ab}	66,6% (2/3) ^{Ab}	77,14% (54/70) ^A
Não especificado		76,4% (2016/2636)*	53,86% (3999/7425)	36,4% (944/2593)*	54,99% (6959/12816)*
Total		76,7% (2105/2747)	53,8% (4022/7470)	36,4% (946/2599)	55,1% (7073/12816)
Raça					
Mestiça		84,3% (225/267) ^{Aa}	43,40% (79/182) ^{Cb}	22,9% (19/84) ^{Bc}	61,4% (321/520) ^B
Girolando		77,8% (1396/1794) ^{Ba}	54,8% (2237/4080) ^{Bb}	36,9% (784/2121) ^{Ac}	55,2% (4417/7995) ^B
Holandesa		70,8% (431/608) ^{Ab}	53,2% (1385/2601) ^{Bb}	42,7% (124/290) ^{Ac}	55,4% (1940/3499) ^B
Gir		65,2% (30/46) ^{Ba}	52,6% (235/446) ^{Ba}	16,6% (5/30) ^{Bcb}	51,7% (270/522) ^B
Nelore		80% (12/15) ^{Aa}	53,2% (50/94) ^{Bb}	13,1% (5/38) ^{Cc}	45,5% (67/147) ^{Bc}
Jersey		0% (0/0)*	50% (16/32) ^{Bca}	23,9% (11/46) ^{Bb}	34,6% (27/78) ^C
Sindi		0% (0/0)*	75% (6/8) ^A	0% (0/0)*	75% (6/8) ^A
Aberdeen Angus		0% (0/0)*	66,6% (2/3) ^A	0% (0/0)*	66,6% (2/3) ^{AB}
Guzerá		100% (1/1) ^A	0% (0/1) ^D	0% (0/0)*	50% (1/2) ^B
Guzolando		100% (1/1) ^A	0% (0/0)*	0% (0/0)*	100% (1/1) ^A
Red Angus		0% (0/0)*	55% (11/20) ^B	0% (0/0)*	55% (11/20) ^B
Senepol		0% (0/1) ^C	0% (0/0)*	0% (0/0)*	0% (0/1) ^D
Total		76,7% (2105/2747)	53,8% (4022/7470)	36,4% (946/2599)	55,1% (7073/12816)

Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os parâmetros analisados. Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os parâmetros analisados.
*Os parâmetros não especificados ou desconhecimentos foram omitidos da análise comparativa, assim como as categorias que apresentaram baixas frequências esperadas

Dentre as localidades analisadas, percebe-se no ano de 2017, Interior de São Paulo, Noroeste de Minas e Brasília apresentaram a maior prevalência (P<0,05) e não diferiram entre si (P>0,05). Em 2018, a do região do Interior de São Paulo, Sul e Sudoeste de Minas e Brasília foram prevalentes (P<0,05). Já, no ano de 2019 Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba não diferiu de Noroeste e Leste de Minas (P>0,05), sendo os mais prevalentes (P<0,05) quando comparado as demais regiões. (Tabela 5). Em relação ao total de dados houve diferença significativa (P<0,05) entre as localidades e a soroprevalência foi maior nas regiões do Interior de São Paulo e Brasília.

Avaliando os períodos de secas e águas entre e dentro de anos, assim como no total, foi observado que, o período das águas foi estatisticamente superior no ano de 2017

em relação a sorologia do período da seca e o período da seca foi mais prevalente nos anos de 2018 e no total de dados ($P < 0,05$).

Tabela 5: Prevalência para pesquisa de anticorpos anti-*T. vivax* pelo método de IFI em amostras sangue de bovinos enviadas para o Hospital Veterinário de Uberaba durante os anos de 2017 a 2019.

Região	Prevalência (% / N° de positivos)			
	2017	2018	2019	TOTAL
Interior de São Paulo	88,9% (217/244) ^{Aa}	70,1% (47/67) ^{Ab}	0% (0/0) [*]	84,8% (264/311) ^A
Tri. Min. e A. Paranaíba	76,3% (1367/1790) ^{Ba}	53,3% (525/984) ^{Bb}	48,2% (193/400) ^{Ab}	65,7% (2085/3174) ^B
Sudeste de Minas	73,1% (384/525) ^{Ba}	53,9% (3406/6318) ^{Bb}	34,3% (714/2078) ^{Bc}	50,4% (4504/8921) ^C
Sul/Sudoe. de M. Gerais	71,0% (125/176) ^{Ba}	100% (8/8) ^{Aa}	23,5% (8/34) ^{Bb}	64,6% (141/218) ^B
Noroeste de Minas	100% (4/4) ^{Aa}	53,3% (8/15) ^{Ba}	50% (8/16) ^{Ab}	57,1% (20/35) ^B
Brasília	100% (8/8) ^{Aa}	100% (1/1) ^{Aa}	0% (0/0) [*]	100% (9/9) ^A
Oeste de Minas	0% (0/0) [*]	53,3% (8/15) ^{Ba}	0% (0/3) ^{Cb}	44,4% (8/18) ^{CD}
Leste de Minas	0% (0/0) [*]	30,7% (15/51) ^{Ca}	45% (9/20) ^{Aa}	25,4% (15/59) ^D
Nordeste de Minas	0% (0/0) [*]	0% (0/0) [*]	29,1% (14/48) ^B	50% (8/16) ^C
Sul do Brasil	0% (0/0) [*]	36,3% (4/11) ^C	0% (0/0) [*]	36,3% (4/11) ^D
Total	76,6% (2105/2747)	53,8% (4022/7470)	36,4% (946/2599)	55,1% (7118/12904)
Época				
Águas	80% (1114/1392) ^{Aa}	50,9% (1581/3104) ^{Bb}	36,3% (946/2599) ^{Bc}	51,3% (3641/7095) ^B
Seca	73,1% (991/1355) ^{Bb}	55,9% (2441/4366) ^{Ab}	0% (0/0) [*]	60% (3432/5721) ^A
Total	76,6% (2105/2747)	53,8% (4022/7470)	36,4% (946/2599)	(7073/12816)

Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os parâmetros analisados. E letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os parâmetros analisados.

*Os parâmetros não especificados ou desconhecimentos foram omitidos da análise comparativa, assim como as categorias que apresentaram baixas frequências esperadas

6. DISCUSSÃO

A prevalência de animais positivos no exame parasitológico para *Trypanosoma vivax*, no presente estudo é considerada baixa e está de acordo com os achados de outros trabalhos (QUISPE et al., 2003; DELAFOSSE et al., 2006; ADAM et al., 2012; BASTOS et al., 2020). A técnica de *Buffy Coat* apresenta baixa sensibilidade (MENESES, 2016; FIDELIS JUNIOR et al., 2019) e durante a fase crônica da doença é pouco provável que seja detectada forma tripomastigota em esfregaço sanguíneo (MADRUGA, 2009). Tal fato justifica a baixa parasitemia observada. É válido salientar que animais que apresentem teste parasitológico negativo, podem ser portadores da enfermidade a níveis indetectáveis devido a essa flutuação parasitária (ANGWECH et al., 2015; GONZALES et al., 2003).

A prevalência de anticorpos contra *T. vivax* apresenta ampla variação (CUGLOVICI et al., 2010; CADIOLI et al., 2012). Em Minas, estudo comprovou que a prevalência sorológica é elevada, podendo chegar a 78,83% de um total 7474 animais testados com sinais clínicos (SILVA, 2018). As amostras de sangue analisadas neste estudo, são provenientes de animais com sinais clínicos e de regiões nas quais são comuns surtos da doença, justificado assim a alta soroprevalência.

Os títulos sorológicos observados no presente estudo, não permite inferir que haja infecção ativa ou não. Ainda assim, a sorologia é um fundamental meio de avaliação da prevalência da doença no rebanho já que ocorre persistência de imunoglobulina G após a recuperação da manifestação clínica da enfermidade no animal (DESQUESNES, 2004; DELAFOSSE et al., 2006).

Ao longo dos anos de 2017 a 2019, houve diminuição de requerimento para pesquisa parasitológica e aumento do sorológico para animais com sinais de tripanossomíase bovina. Como já mencionado anteriormente, há maior dificuldade em encontrar forma tripomastigotas do parasito em esfregaço sanguíneo porque na fase crônica da doença a parasitemia é baixa. É possível também inferir que a maior circulação do agente no rebanho bovino, tenha feito com que a imunidade específica dos animais esteja mais estável, dificultando a identificação do parasita nos exames.

Ao analisar dados epidemiológicos, observou-se maior prevalência parasitológica em animais de raça mestiça, semelhante a outros estudos nos quais relataram-se animais

S.R.D. como os mais comumente acometidos pela doença segundo o grau de positividade do exame de *Buffy Coat* na cidade de São Pedro, Rio Grande do Sul (SILVA et al., 2009). Ainda em relação à raça, porém no exame sorológico, o presente estudo obteve maior número de amostras enviadas de animais das raças Mestiça e Holandesa diferente do observado por Cadioli et al. (2012), Bastos et al. (2013) e Barbosa et al. (2015) que observaram maior prevalência em animais Girolando. E ainda Silva (2018) que observou maior número de positivos na raça Gir.

No presente estudo não houve diferença significativa entre o fator idade no teste parasitológico e sorológico. Porém, segundo Silva et al. (2018), a doença apresenta maior incidência parasitológica em animais com idade superior a 36 meses, mostrando que a idade também é um fator de risco importante para o estabelecimento da doença. No Brasil, os surtos relatados apontam maior prevalência em fêmeas acima de 24 meses e em bovinos leiteiros adultos e vacas em lactação (SILVA et al., 2009; BATISTA et al., 2007; CADIOLI et al., 2012). Outros estudos mostraram que há prevalência em animais mais velhos com análise de anticorpos anti-*T. vivax* (DELAFOSSÉ et al., 2006; DAYO et al., 2010; TAKEET et al., 2013). Vale ressaltar que animais mais jovens estão a menos tempo expostos aos vetores mecânicos da doença, bem como ao sistema de manejo que favorece a contaminação animal nas propriedades criadoras de bovinos leiteiros (TAKEET et al., 2013).

Houve diferença significativa na prevalência em relação ao sexo dentro de cada ano com predomínio entre fêmeas, como observado por outros autores (MEKURIA; GADISSA, 2011; FIKRU et al., 2012; BIRYOMUMAISHO et al., 2013; TAKEET et al., 2013), inclusive em trabalho realizado no Hospital Veterinário de Uberaba (SILVA, 2018). De forma geral, o manejo realizado em fêmeas em período de lactação, com aplicação de ocitocina diariamente com uso de mesma agulha para todas as vacas, representa fonte de contaminação e disseminação da doença no rebanho como apontam alguns estudos em diferentes regiões do Brasil (BASTOS et al., 2013; BARBOSA et al., 2015; FRANGE, 2013).

Quando se leva em consideração fatores como localidade e meses do ano, as prevalências parasitológica e sorológica foram maiores na região do Triângulo Mineiro e Alto do Paranaíba, dentre as amostras providas do estado de Minas Gerais, sendo maioria das amostras enviadas nos meses chuvosos. Tal fato deve-se ao clima

mesotérmico da região em questão na qual observa-se verão chuvoso e inverno seco. O período chuvoso se concentra nos meses de outubro a abril nos quais a pluviosidade média pode chegar a valores entre 1500 e 1750 mm nos municípios pertencentes ao Alto Paranaíba. O período seco ocorre entre os meses de maio e setembro (NIMER, 1989). Nos anos estudados, o prognóstico de precipitação mostrou que em 2018 (INMET, 2018) e 2019 (INMET, 2018), meses que deveriam ser mais secos, apresentaram médias de precipitação maiores que o ano de 2017 (INMET, 2017), justificando maior prevalência da doença no período considerado das secas no presente estudo. Além do mais, a prevalência sorológica da doença no período seco, pode ser justificada por conta do alto trânsito de animais durante tal período, devido ao aluguel de pastos a criadores que possuem pouca disponibilidade de forragem. Batista et al. (2008), observaram também a ocorrência do surto de tripanossomíase por *T. vivax* neste mesmo período e segundo Campos et al. (2008), no período seco é mais comum que os animais sejam confinados e haja quadros de imunossupressão por estresse ocasionados pelo pico de secreção de cortisol endógeno, que inibe a produção de citocinas e suprime a produção de linfócitos. Tal mecanismo torna o animal suscetível a desenvolver várias doenças, dentre elas a Tripanossomíase. Fica clara, portanto, a influência do clima na prevalência da doença por conta do maior número de vetores mecânicos da doença nos períodos e regiões observadas no presente estudo (TEREFE, 2015; SILVA, 2018).

O exame parasitológico apresenta valores decrescentes entre 2017 e 2019. Tal achado pode ter como explicação a diminuição no número de animais que apresentam a fase aguda da enfermidade, já que podem ter adquirido imunidade específica estabilizada. O último surto de tripanossomíase bovina que se tem relatado é o que ocorreu em 2013 na região do Triângulo Mineiro (FRANGE, 2013), nas quais localizam-se as principais áreas das quais provém as amostras analisadas no presente estudo. Pode-se inferir que houve diminuição gradativa no número de animais que desenvolvem a tripanossomíase de forma aguda, pela ausência de relato mais recente na região.

No presente estudo houve diminuição da frequência de animais positivos na sorologia a partir de 2017. Ressalta-se que, mesmo a soroprevalência diminuindo, não houve aumento de prevalência no exame parasitológico. Isso indica que apesar de cada vez menos animais apresentarem anticorpos para a tripanossomíase, não se observa aumento no número de amostras provindas de animais com a fase aguda da doença.

Portanto, salienta-se uma importante inferência de que há expressivo número de amostras enviadas de forma errôneas para análise sorológica. Portanto, fica explícito que a investigação diagnóstica se faz com base na tripanossomíase, sem realizar adequado diagnóstico diferencial o que explica o aumento de número de amostras negativas encaminhadas ao Hospital Veterinário para sorologia.

7. CONCLUSÕES

Com base na análise dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

-No período de 2017 a 2019 houve diminuição do número de animais positivos no exame parasitológico, evidenciando declínio dos animais que apresentam a fase aguda da tripanossomíase bovina na região do Triângulo Mineiro.

- Houve diminuição de animais sororeagentes no período analisado, mostrando a dificuldade em realizar-se adequado diagnóstico clínico.

- Fêmeas Mestiças tiveram maior prevalência da doença entre os anos de 2017 e 2019.

-Período das águas teve maior influência no número de positivos no teste direto e a estação seca influência nos casos reagentes à detecção de anticorpos anti-*T. vivax*.

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.

ADAMU, S.; FATIHU, M.Y.; USEH, N.M.; MAMMAN, M.; SEKONI, V.O.; ESIEVO K.A.N. Sequential testicular and epididymal damage in zebu bulls experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 29-34, 2007.

ALMEIDA, K. S.; FREITAS, F. L. C.; TEBALDI, J. H.; MACHADO, R. Z.; NASCIMENTO, A. A. Alterações clínicas, histopatológicas e enzimáticas em ovinos infectados experimentalmente por *Trypanosoma vivax*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 669-676, 2010.

ANDRIANARIVO, A.G.; MUIYA, P.; OPOLLO, M.; LOGAN-HENFREY, L.L. *Trypanosoma congolense*: comparative effects of a primary infection on bone marrow progenitor cells from N'Dama and Boran cattle. **Experimental Parasitology**, v. 80, p. 407-418, 1995.

ANGWECH, H.; NYEKO, J.H.P.; OPIYO, E.A. et al. Heterogeneity in the prevalence and intensity of bovine trypanosomiasis in the districts of Amuru and Nwoya, Northern Uganda. **Veterinary Research**, v. 11, p. 1-8, 2015.

BASSI, P. B. **Cinética dos parâmetros clínicos, hematológicos e imunológicos em bovinos infectados experimentalmente por *Trypanosoma vivax***. 2014. 91f. Dissertação (Mestrado), Universidade de Uberaba – UNIUBE, Uberaba, 2014.

BARAL, T. N. Immunobiology of African Trypanosomes: Need of alternative interventions. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, artigo n. 389153, 24 p. 2010.

BARBIERI, J. M. BLANCO, Y. A. C.; BRUHN, F. R. P.; GUIMARAES, A. M. Seroprevalence of *Trypanosoma vivax*, *Anaplasma marginale*, and *Babesia bovis* in dairy cattle. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 564-573, 2016.

BARBOSA, J. C.; BASTOS, T. S. A.; RODRIGUES, R. A.; MADRID, A. M., FARIA, L. C.; BESSA, G. F. V. Primeiro surto de tripanossomose bovina detectado no estado de Goiás, Brasil. **Ars Veterinaria**, v. 31, n. 2, p. 100, 2015.

BASTOS, T. S. A.; LINHARES, G. F. C.; FREITAS, T. M. S.; SILVA, L. A. F.; CUNHA, P. H. J. Surto de tripanossomose bovina desencadeado após manejo inadequado durante aplicação de medicamento endovenoso. **Ars Veterinaria**, v.29, n.4, p.63, 2013.

BASTOS, T. S. A.; FARIA, A. M.; MADRID, D. M. C.; BESSA, L. C.; LINHARES, G. F. C.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; CRUZ, B. C.; CRUVINEL, L. B.; NICARETTA, J. E.; MACHADO, R. Z.; COSTA, A. J, LOPES, W. D. Z. First outbreak

and subsequent cases of *Trypanosomavivax* in the state of Goiás, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 366-371, 2017.

BASTOS, T. S. A.; FARIA, A. M.; COUTO, L. F. M.; NICARETTA, J. E.; CAVALCANTE, A. S. A.; ZAPA, D.M.B.; FERREIRA, L. L.; HELLER, L. M.; MADRID, D. M. C.; CRUVINEL, L. B.; ROSSI, G. A. M.; SOARES, V. E.; CADIOLI F. A.; LOPES, W. D. Z. Epidemiological and molecular identification of *Trypanosoma vivax* diagnosed in cattle during outbreaks in central Brazil. **Parasitology**, v. 147, n. 12, p. 1313-1319, 2020.

BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M.; MADRGA, 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. 147-181, 2007.

BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; CARVALHO, J. R. G.; NETO, A. M. R.; PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. 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. 2008.

BATISTA, J.S.; RODRIGUES, C.M.; OLINDA, R.G.; SILVA, T. M. F.; VALE, R. G.; CÂMARA, A. C. L.; REBOUÇAS, R. E. S.; BEZERRA, F. S. B.; GARCÍA, A. H. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Highly debilitating natural *Trypanosoma vivax* infectious in Brazilian calves: epidemiology, pathology, and probable transplacental transmission. **Parasitology Research**, v. 110, p. 73-80, 2012.

BIRYOMUMAISHO, S.; RWAKISHAYA, E. K.; MELVILLE, S. E.; CAILLEAU, A.; LUBEGA, G. W. Livestock trypanosomosis in Uganda: parasite heterogeneity and anaemia status of naturally infected cattle, goats and pigs. **Parasitology Research**, v. 112, n. 4, p. 1443-1450, 2013.

BITTAR, J. F. F.; MOURA, D.; YOKOTA, C. G.; SOUZA JÚNIOR, W. R. M.; PEREIRA, S. A. L.; BITTAR, E. R.; PANETO, J. C. C.; OLIVEIRA, P. C. L. **Trypanosomatídeos em bovinos: isolamento, identificação e avaliações laboratoriais e clínica de animais na região de Uberaba-MG, naturalmente infectados.** In: VII Seminário de Iniciação Científica da Universidade de Uberaba, 2006, Uberaba-MG. **Anais[...]**VII Seminários de Iniciação Científica da Universidade de Uberaba, 2006. Uberaba, 2006.

BODA, C.; COURTIUOX, B.; ROQUES, P.; PERVIEUX, L.; VATUNGA, G.; JOSENANDO, T.; AYENENGOYE, C. R.; BOUTEILLE, B.; JAUBERTEAU M. O.; BISSER, S. Immunophenotypic lymphocyte profiles in Human African Trypanosomiasis. **Plos One**, v. 4, n. 7, e.6184. 2009.

CADIOLI, F. A. BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS JUNIOR, 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. 2012.

- CADIOLI, F. A.; FIDELIS, O. L. J. R.; SAMPAIO, P. H.; SANTOS, G. N.; ANDRÉ, M. R.; CASTILHO, K. J. G. A.; MACHADO, R. Z. Detection of *Trypanosoma vivax* using PCR and LAMP during aparasitemic periods. **Veterinary Parasitology**, v. 214, n. 1, p. 174-177, 2015.
- CAMPOS, M. T. G.; BITTAR, J. F. F.; FRANGE, R. C. C.; BASSI, P. B. Surto de tripanossomíase na região de Veríssimo-MG: Perfil sorológico, hematológico e bioquímico. In: 39º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Santos-SP. **Anais[...]**. Santos: 2012.
- CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 769–771, 2008.
- CORTEZ, A. P.; RODRIGUES, A. C.; GARCIA, H. A. et al. Cathepsin L- likes genes of *Trypanosoma vivax* from Africa and South America- characterization, relationships and diagnostic implications. **Molecular and Celular Probes**, v. 23. p. 44- 51. 2009.
- COSTA, V. M. M.; RIBEIRO, M. F. B.; DUARTE, A. L. L.; mangueira, J. M.; PESSOA, A. F. A.; AZEVEDO, S. S.; BARROS, A. T. M.; RIET-CORREA, F.; LABRUNA, M. B. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, p. 207-213, 2013.
- 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**, v. 11, n. 3-4, p. 320-326. 2010.
- DABUS, D. M. M.; CAMPOS, D. F.; NEVES, M. F. *Trypanosoma vivax*. **Revistas Científicas Eletrônicas**, Labienópolis, v. 7, n.161, 2011.
- DAGNACHEW, S.; BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. **African Journal of Basic and Applied Sciences**, v.7, n.1, p.41-64, 2015.
- DÁVILA, A. M. R.; RAMIREZ, L.; SILVA R. A. M. S. Morphological and biometrical differences among *Trypanosoma vivax* isolates from Brazil and Bolivia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.92, p.357-358. 1997.
- DÁVILA, A. M. R.; HERRERA, H. M.; SCHLENBINGER, T.; SOUZA, S. S.; TRAUB-CSEKO, Y. M. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomiasis in the Pantanal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 117, p. 1-13, 2003.
- DAYO, G.K.; BENGALY, Z.; MESSAD, S.; BUCHETON, B. SIDIBE, I.; CENE, BILA.; CUNY, G.; THEVENON, S. Prevalence and incidence of bovine trypanosomosis

in an agro-pastoral area of southwestern Burkina Faso. **Research in Veterinary Science**, v. 88, p. 470-477, 2010.

DEGNEHA, E., ASHENAFIA, H., KASSAB, T., KEBEDEB, N., SHIBESHIC, W., ASRESC, K., TEREFE, G. Trypanocidal drug resistance: a threat to animal health and production in Gidami district of Kellem Wollega Zone, Oromia Regional State, Western Ethiopia. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 168, p. 103–107, 2019.

DELAFOSSÉ, A.; THÉBAUD, E.; DESQUESNES, M.; MICHAUX, Y. Epidemiology of *Trypanosoma vivax* infection in cattle in the tse-tse free area of Lake Chad. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 74, p. 108–119, 2006.

DESQUESNES, M.; GARDINER, P.R. Épidémiologie de la trypanosomose bovine (*Trypanosoma vivax*) en Guyane Française. **Revue d'élevage et de Méd. Vétérinaire de Pays Tropicaux**, v. 46, p. 463-470, 1993.

DESQUESNES, M.; TRESSE, L. Evaluation de la sensibilité du test de Woo pour la détection de *Trypanosoma vivax*. **Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, v.49, n.315-321. 1996.

DESQUESNES, M.; DÁVILA, A. M. R. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 213-231, 2002.

DESQUESNES, M.; DIA, M. L. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. **Veterinary Parasitology**, v. 119, p. 9-19, 2004.

DESQUESNES, M. Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America. **OIE & CIRAD**, Paris, p.190, 2004.

ENWEZOR, F. N.; SAMDI, S. M.; IJABOR, O.; ABENGA, J. N. The prevalence of bovine trypanosomes in parts of Benue state, north-central Nigeria. **Journal of Vector Borne Disease**, v. 49, n. 3, p.188-190, 2012.

EISLER, M. C.; LESSARD P.; MASAKE R. A.; MOLOO S. K.; PEREGRINE A. S.; Sensitivity and specificity of antigen-capture ELISAs for diagnosis of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma vivax* infections in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 79, p. 187-201, 1998.

FIKRU, R.; GODDEERIS, B. M.; DELESPAUX, V.; MOTI, Y.; TADESSE, A.; BEKANA, M.; CLAES, F.; DEKEN, R.; BÜCHER, P. Widespread occurrence of *Trypanosoma vivax* in bovines of tsetse- as well as non-tsetse-infested regions of Ethiopia: a reason for concern. **Veterinary Parasitology**, v. 190, p. 355-361, 2012.

FRANGE, R.C.C., BITTAR, J.F.F, SILVA, M.B.O., BASSI, P.B., FREITAS, B.B.B., CAMPOS, M.T.G., MACEDO, D.M.R., PAIVA, F., BITTAR, E.R. Tripanossomíase em vacas da microrregião de Uberaba MG: estudo soroepidemiológico. In: **XVII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Anais[...]**. 2012.

FRANGE, R. C. C. **Tripanosomíase em vacas da microrregião de Uberaba – MG: Estudo Soroepidemiológico e Relato de Surto**. 2013. 76f. Dissertação (Doutorado) – Universidade de Uberaba – UNIUBE, Uberaba, 2013.

GARCIA, H. A. ; RAMÍREZ, O. J. ; RODRIGUES, C. M. F. ; SÁNCHEZ, R. G. ; BETHENCOURT, A. M. ; PÉREZ, G. M DEL. ; MINERVINO, A. H. H. ; RODRIGUES, A. C. *Trypanosoma vivax* in water buffalo of the Venezuelan Llanos: An unusual outbreak of wasting disease in an endemic area of typically asymptomatic infections. **Veterinary Parasitology**, v. 230, p. 49-55, 2016.

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

GAUNT, S.D. **Hemolytic anemias caused by blood rickettsial agents and protozoa**, p.154-162. In: FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G.; JAIN N.C. (ed.) Schalm's Veterinary Hematology. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 154-162.

GILLINGWATER, K., KUNZ, C., BRAGHIROLI, C., BOYKIN, D. W., TIDWELL, R. R., BRUN, R. 2017. In vitro, ex vivo, and in vivo activities of diamidines against *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma vivax*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 61, e02356–16.

GÓMEZ-PIÑERES, E.; TAVARES-MARQUES, L.; REYNA-BELLO, A. Tiempo de supervivencia in vivo y criopreservación de *Trypanosoma vivax*. **Revista Científica, FCV-Luz**, v. 19, n. 3, p. 225-229, 2009.

GONZALEZ, J. L.; JONES, T. W.; PICOZZI, K.; CUELLAR, H. R. Evaluation of a polymerase chain reaction assay for the diagnosis of bovine trypanosomiasis and epidemiological surveillance in Bolivia. **Kinetoplastid Biology and Disease**, New York, v. 28, p. 8-12, 2003.

GONZATTI, M.I.; GONZÁLEZ-BARADAT, B.; ASO, P. M. et al. *Trypanosoma (Duttonella) vivax* and Trypanosomosis in Latina America: Secadera/Huequera/Cacho Hueco. In: MAGEZ, S.; RADWANSKA, M. **Trypanosomes and Trypanosomiasis**. Springer-Verlag Wien: London, 2014. p. 261-285.

GUEDES JÚNIOR, D.S.; ARAÚJO, F.R.; SILVA, F. J. M.; RANGEL, C. P.; NETO, J. D. B.; 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 Veterinária.**, v. 12, 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, p. 833-835, 2008.

GUTIÉRREZ, C.; GONZÁLEZ-MARTÍN, M.; CORBERA, J. A.; JUNCO, M. Chemotherapeutic Agents Against Pathogenic Animal Trypanosomes. *In*: MÉNDEZ-VILAS, A. (Ed.). **Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education**. Formatex Research Center, Spain, 2013. p. 1564–1573.

HILL, E. W.; O’GORMAN, G. M.; AGABA, M.; GIBSON, J. P.; HANOTTE, O.; KEMP, S. J.; NAESSENS, J.; COUSSENS, P. M.; MACHUGH, D. E. Understanding bovine trypanosomiasis and trypanotolerance: the promise of functional genomics. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 105:3-4, p. 247–258, 2005.

HOARE, C. A. The Trypanosomoses of mammals: **The Trypanosomoses of mammals**, Oxford: Blackwell, 1972, 749p.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Boletim Mensal para Minas Gerais. Belo Horizonte: INMET, 2017. 6p. Disponível em: https://portal.inmet.gov.br/uploads/notastecnicas/boletim_5dis_20180228.pdf

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Boletim Mensal para Minas Gerais. Belo Horizonte: INMET, 2018. 5p. Disponível em: https://portal.inmet.gov.br/uploads/notastecnicas/boletim_5dis_20171231.pdf

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Boletim Mensal para Minas Gerais. Belo Horizonte: INMET, 2018. 5p. Disponível em: https://portal.inmet.gov.br/uploads/notastecnicas/boletim_5dis_20181130.pdf

KINABO, L. D.; BOGAN, J. A. A farmacologia do isometamidium. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.11, p. 233-245, 1988.

LINHARES, G. F. C.; FILHO, F. C. D.; 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, 2006.

LOSOS, G. J.; IKEDE, B. O. 1972. Review of Pathology of diseases in domestic and laboratory animals caused by Trypanosoma congolense, *T. vivax*, *T. brucei*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. **Veterinary Pathology** (suppl.), v. 9, p. 1-71.

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.; LIMA JR, M. M. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 7, 2006.

MADRUGA, C. R. **Epidemiologia do Trypanosoma no Brasil**. National Council for Scientific and Technological Development. 2009.

MAGONA, J. W.; WALUBENGO, J.; ODIMIN, J. T. Acute haemorrhagic syndrome of bovine trypanosomosis in Uganda. **Acta Tropica**, v. 107, p. 186–191, 2008.

MARTINS, C. F.; MADRUGA, C. R.; KOLLER, W. W.; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O. KESSLER, R. H.; MELO, E. S. P.; RIOS, L. R.; ALMEIDA, R. C. F.; LIMA JR, M. S. C.; BARROS, A. T. M.; MARQUES, L. C. *Trypanosoma vivax* infection dynamics in a cattle herd maintained in a transition area between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 51-56, 2008.

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

MATTIOLI, R. C.; FAYE, J. A.; JAITNER, J. Estimation of trypanosomal status by the buffy coat technique and an antibody ELISA for assessment of the impact of trypanosomosis on health and productivity of N'Dama cattle in The Gambia. **Veterinary Parasitology**, v.95, p.25–35, 2001.

MEKURIA, S.; GADISSA, F. Survey on bovine trypanosomosis and its vector in Metekel and Awi zones of Northwest Ethiopia. **Acta Tropical**, v. 117, p. -151, 2011.

MENESES, R. M. **Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011: soroprevalência e fatores de risco**. 2016, 61f. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária- UFMG, Belo Horizonte, 2016.

MOURA, D. M. de. **Identificação de *Trypanosoma vivax* e de antígenos do parasita em plasma seminal de bovinos púberes experimentalmente infectados**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) - Universidade de Uberaba, Uberaba, 2014.

MULANDANE, F. C.; FAFETINE, J.; VAN DEN ABBEELE, J.; CLAUSEN, P.-H.; HOPPENHEIT, A.; CECCHI, G.; OOSTHUIZEN, M.; DELESPAUX, V.; NEVES, L. Resistance to trypanocidal drugs in cattle populations of Zambezia Province. Mozambique. **Parasitology Research**, v. 117, p. 429–436, 2018.

MURRAY, M. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, n. 4, p. 325-326, 1977.

BRASIL/ Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. **Balço hídrico e clima da região dos cerrados**. Organizado por NIMER, E.; BRANDÃO, A. M. P. M. Rio de Janeiro: 166p, 1989.

NJIRU, Z.; OUMA, J.; BATETA, R. NJERU, S. E.; NDUNGU, K.; GITONGA, P. K.; GUYA, S.; TRAUB, R. Loop-mediated isothermal amplification test for *Trypanosoma vivax* based on satellite repeat DNA. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 358-362, 2011.

OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C. O.; RIBEIRO, L. R. R.; DA COSTA, S. C. G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - a Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 1-13, 2008.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; OSHIRO, E.T. et al. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, Supp. I, p. 349,1997.

PEREIRA, L.J.; ABREU, A.C.V.V. Ocorrência de tripanosomas em bovinos e ovinos na região Amazônica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 13, p. 17-21, 1978.

PEREIRA, H. D.; SIMÕES, S. V. D.; SOUZA, F. A. L.; SILVEIRA, J. A. G.; RIBEIRO, M. F. B.; CADIOLI, F. A.; SAMPAIO, P. H. Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico da infecção por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 896-901, 2018.

PILLAY, D.; IZOTTE, J.; FIKRU, R.; BÜSCHER, P.; MUCACHE, H.; NEVES, L.; BOULANGÉ, A.; SECK, M. T.; BOUYER, J.; NAPIER, G. B.; CHEVTZOFF, C.; COUSTOU, V.; BALTZ, T. *Trypanosoma vivax* GM6 Antigen: A Candidate Antigen for Diagnosis of African Animal Trypanosomosis in Cattle. **Plos One**, v. 10, n. 8, 2013.

PIMENTEL, D. S.; RAMOS, C. A. N.; RAMOS, R. A.; 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**, v. 185, p. 286-289, 2012.

QUISPE, P. A.; CHÁVEZ, A. V.; CASAS, E. A.; TRIGUEROS, A. V.; SUÁREZ, F. A. Prevalencia de *Trypanosoma vivax* em bovinos de la provincia de Coronel Portillo, Ucayali. **Revista de Investigaciones Veterinária del Perú**, v. 14, p. 161-165, 2003.

RADOSTITS, C.C.G, DOUGLAS, C.B, KENNETH, W, HINCHCLIFF. **Clínica veterinária - Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. São Paulo: Gyanabara Koogan, 2002.

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.

REIS, M. O.; SOUZA, F. R.; ALBUQUERQUE, A. S.; MONTEIRO, F.; OLIVEIRA LFDS.; RAYMUNDO, D L.; WOUTERS, F.; WOUTERS, A. T. B.; PECONICK, A. P.; VARASCHIN, M.S. Epizootic Infection by *Trypanosoma vivax* in Cattle from the State of Minas Gerais, Brazil. **The Korean Journal of Parasitology**. 2019 v. 57, n. 2, p.191-195, 2019.

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.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 66, p. 25-32, 1972.

SILVA, R. A. M. S.; DA SILVA, J. A.; SCHENEIDER, R. C.; FREITAS, J.; MESQUITA, D.; 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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 5 p. 561-562, 1996.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*– **Biologia, diagnóstico e controle**. Corumbá: Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 2002. 140p.

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**. Corumbá: Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 2004, 21p.

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, 2009.

SILVA, C. C. **Estudo parasitológico, sorológico e molecular de amostras de sangue de bovinos encaminhadas ao hospital veterinário de Uberaba com suspeita clínica de tripanossomíase por *Trypanosoma vivax***. 2018. 85F. Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba – UNIUBE, Uberaba, 2018.

STEVENSON, P.; OKECK, G.; MWENDIA, C. et al. Comparison of the isometamidium-based trypanocidal drugs Samorin® and Veridium® in cattle under field conditions at Nguruman, Kenya. **Acta Tropica**, v. 77, p. 195-201, 2000.

SOW, A.; SIBIDÉ, I.; BENGALY, Z. et al. Field detection of resistance to isometamidium chloride and diminazene aceturate in *Trypanosoma vivax* from the region of the Boucle du Mouhoun in Burkina Faso. **Veterinary Parasitology**, v. 187, p. 105-111, 2012.

TAKEET, M. I.; FAGBEMI, B. O.; DE DONATO, M.; YAKUBU, A.; RODULFO, H. E.; PETERS, S. O.; WHETO, M.; IMUMORIN, IG. G. Molecular survey of pathogenic trypanosomes in naturally infected Nigerian cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 94, p. 555-561, 2013.

TAMASAUKAS, R.; SILVA, A.; FLORIO-LUIS, J.; SANCHES, J.; FERNANDÉZ, M.; RIVERA, S.; COBO, M. Agroecoe epidemiología de tripanosomosis en ganadería doble propósito en el sistema de Riego Río Guárico, Venezuela. Etapa I. **Actas Iberoamericanas Conservación Animal**, v. 4, p. 285-288, 2014.

TAYLOR, K.; AUTHI, E. M. L. Pathogenesis of Animal Trypanosomiasis. In: MAUDLIN, I.; HOLMES, P.; MILES, M. **The Trypanosomiasis**. 1. ed, Wallingford: CABI Publishing, 2004. p. 331-353.

TEREFE, E.; HAILE, A.; MULATU, W.; DESSIE, T.; MWAI, O. Phenotypic characteristics and trypanosome prevalence of Mursi cattle breed in the Bodi and Mursi

districts of South Omo zone, southwest Etiopia. **Tropical Animal Health Production**, v. 47, p. 485-493, 2015.

TORO M.; LEON, E.; LOPEZ, R.; PALLOTA, F., GARCIA JA E RUIZ A. Efeito do isometamidium sobre infecções por *Trypanosoma vivax* e *T. evansi* em animais experimentalmente infectados. Veterinary Parasitology, transduction, gene transcription, and cytokine production triggered in macrophages by exposure to trypanosome DNA. **Infection and Immunity**, v.74, n.8, p.4530–4537. 2006.

VAN DEN BOSSCHE P.; ROWLANDS G. J. 2001. The relationship between the parasitological prevalence of trypanosomal infections in cattle and herd average packed cell volume. **Acta Tropica**, v. 78, p. 163-170, 2006.

VENTURA, R. M.; PAIVA, F.; SILVA, R. A. M. S.; 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**, v. 99, p. 37-48. 2001.

VIEIRA, O. L. E.; SANTOS, M. A. B.; SILVA, J. A. B. A.; MENDONÇA, C. L.; FAUSTINO, M. A. G.; RAMOS, C. A. N.; ALVES, L. C.; RAMOS, R. A. N.; CARVALHO, G. A. Detection and molecular characterization of *Trypanosoma* (*Duttonella*) *vivax* in dairy cattle in the state of Sergipe, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 4, p. 516-520, 2017.

WELLS, E. A.; BETANCOURT, A.; RAMIREZ, L. E. Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the New World. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, p. 448-449, 1977.

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

Anexo 1: Aprovação CEEA

Ofício CEEA-038/2017

Uberaba, 20 de outubro de 2021

Ilma. Prof.

Eustáquio Resende Bittar

Assunto: Encaminha processo nº 016/2017, sobre o protocolo de pesquisa “*Criação de banco de amostras biológicas de bovinos e cães submetidos a exames laboratoriais no Hospital Veterinário de Uberaba para padronização de testes imunodiagnósticos utilizando proteínas recombinantes, quiméricas, peptídeos sintéticos e bacteriófagos*”.

Prezado(a) Professor(a),

Em resposta a sua solicitação, informo que o protocolo acima referido foi submetido avaliação do CEEA-UNIUBE, na reunião do dia 22/06/2017, sendo considerado **aprovado**.

Atenciosamente,



Profa. Joely F. Figueiredo Bittar

Coordenadora do CEEA-UNIUBE