



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE MESTRADO



***Trypanosoma* spp. EM BOVINOS NO PANTANAL DE
MATO GROSSO DO SUL, BRASIL**

JESSICA TELES ECHEVERRIA

Campo Grande – MS
2021

JESSICA TELES ECHEVERRIA

***Trypanosoma* spp. EM BOVINOS NO PANTANAL DE
MATO GROSSO DO SUL, BRASIL**

Trypanosoma spp. IN CATTLE IN THE MATO GROSSO DO SUL PANTANAL,
BRAZIL

JESSICA TELES ECHEVERRIA

Orientador: FERNANDO PAIVA

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
da Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do título
de Mestre em Ciências Veterinárias.

Campo Grande – MS
2021

FOLHA DE APROVAÇÃO



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
MESTRADO

Aos trinta dias do mês de agosto do ano de dois mil e vinte e um, às oito horas, por vídeo conferência, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Fernando Paiva (UFMS), Herakles Antonio Garcia Perez (USP) e Luis Neves (UP), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: JESSICA TELES ECHEVERRIA, CPF 03390496181, do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Curso de Mestrado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "TRYPANOSOMA SPP. EM BOVINOS NO PANTANAL DE MATO GROSSO DO SUL, BRASIL" e orientação de Fernando Paiva. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Dissertação. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR	AValiação
Dr. Fernando Paiva (Presidente) _____	(APROVADO)
Dr. Herakles Antonio Garcia Perez (Externo) _____	(APROVADO)
Dr. Luis Neves (Externo) _____	(APROVADO)

RESULTADO FINAL:
(X) Aprovação () Aprovação com revisão () Reprovação

OBSERVAÇÕES:

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas



Documento assinado eletronicamente por Luis Carlos Bernardo Gil das Neves, Usuário Externo, em 30/08/2021, às 13:13, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.739 de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Herakles Antonio Garcia Perez, Usuário Externo, em 30/08/2021, às 15:46, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.739 de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Fernando Paiva, Professor do Magisterio Superior, em 31/08/2021, às 07:27, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.739 de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_confirmito_organizacao_externa=0, informando o código verificador 2755523 e o código CRC FC942807.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Av. Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

DEDICATÓRIA

Quero de agradecer primeiramente a Deus por toda força e determinação que me concedeu para a realização deste trabalho. À minha família pelo apoio e cuidado. Ao meu orientador, pois sem o apoio e a compreensão dele, nada disso seria feito. Foi um verdadeiro orientador, um pai, um amigo e a minha amiga Fernanda que me ajudou muito na pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Ao professor doutor e orientador Fernando Paiva da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pelo todo apoio financeiro na compra de materiais para essa pesquisa, viagens e outros.

A professora doutora Marta Maria Geraldtes Teixeira, da Universidade de São Paulo pelo apoio financeiro e disponibilidade da sua equipe para a realização do PCR-FFLB realizado no Laboratório de Taxonomia e Filogenia de Tripanossomatídeos-USP.

A professora doutora Rosângela Zacarias Machado da Universidade Estadual de São Paulo pela doação de dois kits da sua empresa Imunodot[®], ELISA para *T. vivax* para o diagnóstico sorológico.

A CAPES pelo fornecimento da bolsa de estudos para mestrandos.

O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis. (Fernando Pessoa)

RESUMO

O real impacto das infecções por *Trypanosoma* spp. ao longo do tempo em bovinos, é desconhecido no Brasil. O objetivo deste trabalho foi estimar as prevalências parasitológica, sorológica e molecular de *Trypanosoma* spp. em bovinos no Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil; transcorridos mais de duas décadas de sua introdução. Foram amostrados 312 bovinos, de ambos os sexos, predominantemente da raça nelore em quatro propriedades rurais na região do Pantanal, do estado de Mato Grosso do Sul, adotando o método de amostragem aleatória estratificada (adultos e jovens) e em clusters (propriedades), para diagnósticos de *Trypanosoma* spp. utilizando as técnicas de microhematócrito e da PCR-FFLB (Fluorescent Fragment Length Barcoding). Nas mesmas propriedades, outras 170 amostras de soro bovino adulto foram coletadas para o método de Ensaio Imunoenzimático. Pela técnica do microhematócrito, 14,42% (45/312) dos bovinos estavam infectados por *Trypanosoma* spp.; considerando a intensidade parasitária, 37 foram classificadas com + (1-5 tripomastigotas), 7 com ++ (6-10) e 1 com ++++ (>20). O volume globular em todos os animais estava entre os padrões de normalidade (24 a 46%) para a espécie e categoria animal. Pelos resultados da PCR-FFLB, 34,61% (108/312) dos animais eram portadores de *T. theileri* e 1,6% (5/312) com *T. vivax*. Entre os animais amostrados, apenas dois apresentaram coinfeção para ambas as espécies. Pelo ELISA, 50,59% (86/170) das amostras foram reagentes ao antígeno recombinante de *T. vivax* empregado. As espécies encontradas pelo PCR-FFLB foram *T. theileri* e *T. vivax* em bovinos assintomáticos. A situação epidemiológica de *T. theileri* não foi possível determinar com segurança, pelos mesmos critérios adotados para a outra espécie, mas podemos concluir que esta é a mais prevalente em bovinos no Pantanal. A espécie *T. vivax*, possui baixa prevalência, inclusive molecular, associada a baixa intensidade parasitária, com elevado número de indivíduos com anticorpos, assintomáticos. Como, nas condições pantaneiras, os vetores para essa espécie são apenas mecânicos, a comunicabilidade é baixa e a transmissão vetorial é reduzida, pode-se então concluir, que a espécie *T. vivax* está em equilíbrio endêmico nos rebanhos bovinos no Pantanal Sul-mato-grossense.

Palavras-chave: Ruminantes, Diagnóstico, Epidemiologia, Tripanosomíases.

Abstract

The real impact of *Trypanosoma* spp. over time in cattle, it is unknown in Brazil. The objective of this work was to estimate the parasitological, serological and molecular prevalence of *Trypanosoma* spp. in cattle in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil, more than two decades after its introduction. A total of 312 cattle, of both sexes, predominantly of the Nelore breed, were sampled in four rural properties in the Pantanal region, in the state of Mato Grosso do Sul, adopting the method of stratified random sampling (adults and young people) and in *clusters* (properties), for diagnoses of *Trypanosoma* spp. using the techniques of microhematocrit and PCR-FFLB (Fluorescent Fragment Length Barcoding). In the same properties, another 170 samples of adult bovine serum were collected for the Enzyme Immunoassay method. Using the microhematocrit technique, 14.42% (45/312) of the cattle were infected by *Trypanosoma* spp.; considering the parasitic intensity, 37 were classified as + (1-5 trypomastigotes), 7 as ++ (6-10) and 1 as ++++ (>20). The globular volume in all animals was within the normal range (24 to 46%) for the species and animal category. According to the PCR-FFLB results, 34.61% (108/312) of the animals were carriers of *T. theileri* and 1.6% (5/312) of the animals had *T. vivax*. Among the animals sampled, only two showed co-infection for both species. By ELISA, 50.59% (86/170) of the samples were reactive to the *T. vivax* recombinant antigen used. The species found by PCR-FFLB carrying *T. theileri* and/or *T. vivax* were clinically without symptoms. The epidemiological situation of *T. Theileri* could not determine accurately by the same criteria adopted for the other species, but we can conclude that this species is the most prevalent in bovine animals in the Pantanal. The species *T. vivax* has a low molecular prevalence, associated with low parasitic intensity, with a high number of individuals with antibodies, in the absence of symptoms, in the Pantanal conditions where vectors for this species are only mechanical, communicability is low and transmission vector is reduced, so it can be concluded that the species *T. vivax* is in endemic equilibrium with cattle from Pantanal Sul-mato-grossense.

Keywords: Diagnosis, Epidemiology, Ruminants, Trypanosomes.

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Tabela 1. Registros de ocorrência de *T. vivax* em animais em diversas regiões do Brasil. 31, 32, 33

ARTIGO CIENTÍFICO

- Tabela 1. Registros de ocorrências de *T. vivax* em bovinos nas diversas regiões do Brasil, métodos de diagnósticos utilizados e as respectivas referências. 55, 56
- Tabela 2. Número de amostras com formas tripomastigotas e a intensidade parasitária com *Trypanosoma* spp., e os respectivos percentuais, diagnosticados pela técnica do microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) em bovinos no Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil; no período de maio de 2019. 63
- Tabela 3. Prevalências parasitológicas diagnosticadas pela técnica do microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) e molecular por PCR-FFLB (Hamilton et al. 2008) de *Trypanosoma* spp. em bovinos jovens e adultos na região do Pantanal, Mato Grosso do Sul – Brasil, no período de maio de 2019. 64
- Tabela 4. Tabela 2x2 para avaliação do Teste de Microhematócrito para diagnóstico de *Trypanosoma* spp. 65
- Tabela 5. Registros morfométricos de espécimes identificados como *Trypanosoma theileri* e *Trypanosoma vivax*, obtidos em *Buffy coat* (MURRAY et. al., 1977) em capilares de microhematócritos processados (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) com sangue de bovinos amostrados no Pantanal de Mato Grosso do Sul; medidas em micrometro (μm). 67
- Tabela 6. Resultados pelo Teste de ELISA para *T. vivax*, em soros de bovinos adultos na região do Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil. 68

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Espécimes de *Trypanosoma theileri* (A) e *Trypanosoma vivax* (B), observados em *Buffy coat* (MURRAY, et. al., 1977) obtidos em tubos de microhematócrito após processamento pela Técnica do Microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) corados segundo Giemsa. Barra de escala 20 μ m 67
- Figura 2. Representação da distribuição das densidades ópticas observadas nos *cluster* A, B, C, D e Geral da amostragem, pela Reação de ELISA para *T. vivax*, em soros de bovinos adultos na região do Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil. Empregando o kit Imunoteste® *Trypanosoma vivax* (Imunodot Diagnósticos®, Jaboticabal – SP, Brasil), com proteína recombinante. *Cut off* 0.567 η m. 69

SUMÁRIO

RESUMO.....	v
Abstract.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 <i>Trypanosoma vivax</i>.....	14
2.2 <i>Trypanosoma vivax</i> em bovinos no Brasil.....	16
2.3 <i>Trypanosoma theileri</i> no Brasil.....	34
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
4. ARTIGO CIENTÍFICO: <i>Trypanosoma</i> spp. em bovinos no Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil.....	51
5. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	90
6. IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E/OU INOVAÇÃO.....	90

1. INTRODUÇÃO

Os tripanosomatídeos (Euglenozoa: Kinetoplastida), são protozoários parasitas obrigatórios que podem infectar uma diversidade de espécies animais (vertebrados e invertebrados) e plantas. Possuem um núcleo, um único flagelo e uma organela modificada denominada cinetoplasto, composta por concatenados de minicírculos e maxicírculos de material genético (kDNA) importantes para suas funções orgânicas (VOTÝPKA et al., 2015).

O fenômeno do parasitismo ocorre devido à perda da complexidade ou especialização do parasita, redução da capacidade evolutiva ou por inovação e aumento da complexidade funcional, isso foi muito importante para o sucesso das espécies de *Trypanosoma* spp. que possuem um ancestral de vida livre. Os quais especializaram sua membrana de superfície celular para se adaptarem e serem transmitidos para os hospedeiros, que desenvolveram mecanismos de defesa para sobreviverem, uma vez que o seu sistema imunológico desencadeia uma pressão seletiva sobre o parasita, que deverá se especializar para sobreviver a essa pressão, resultando no processo de coevolução (JACKSON et al., 2016).

Esses organismos estão amplamente distribuídos, porém se apresentam com maior frequência nas regiões com clima tropical ou subtropical, nas Américas e na África onde há maior ocorrência de casos em animais e humanos, onde os vetores são mais abundantes para transmissão do parasita (HOARE, 1972; BROWNE et al., 2017; FRANCO et al., 2017).

Na África, as espécies de *Trypanosoma* de maior importância sanitária estão relacionadas com infecções em animais biungulados, são eles pertencentes à seção salivaria nos subgêneros *Nannomonas*: *Trypanosoma congolense*, *Dutonella*: *Trypanosoma vivax* e *Trypanozoon*: *Trypanosoma brucei brucei*, *Trypanosoma brucei gambiense*, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma equiperdum*. Na seção Stercoraria a espécie de maior destaque é o *Trypanosoma theileri* que pertence ao subgênero *Megatrypanum* (TURNER & VICKERMAN, 1998; CFSPH, 2018).

Na América do Sul, as espécies de *Trypanosoma* mais frequentemente relatadas em animais biungulados são *T. vivax* e *T. theileri* (HOARE, 1972); e no Brasil são mais numerosos os registros de casos de *T. vivax* do que de *T. theileri* (NUNES et al., 1983; PAIVA et al., 1997; OSÓRIO et al., 2008). Em outros animais, a espécie *T. evansi* é registrada em equídeos, cães e mamíferos silvestres (HOARE, 1965; VENTURA et al. 2000; HERRERA et al., 2004).

No continente americano, a transmissão de *T. vivax* e *T. evansi* ocorre pela forma mecânica pela picada de dípteros hematófagos, principalmente tabanídeos ou mesmo de forma iatrogênia (HOARE, 1972; OTTE & ABUABARA, 1991; BASTOS et al., 2017). Essas formas de transmissões observadas contribuem para que as cepas apresentem baixa diversidade genética, visto que a multiplicação das espécies *T. vivax* e *T. evansi* na América do Sul, ocorrem essencialmente por fissão binária (VENTURA et al., 2000; GARCIA et al., 2014), visto a ausência de seu vetor biológico, a mosca Tse-tsé do gênero *Glossina* presentes no continente Africano (BRUCE et al., 1910; KRINSKY & PECHUMAN, 1975).

Em contrapartida, a espécie *T. theileri*, possui transmissão pela forma estercorária, cujos vetores são da família Tabanidae (HOARE, 1972; BÖSE et al., 1987; BÖSE & HEISTER, 1993), o que provavelmente explique a maior diversidade genética observada na espécie, nas condições do continente americano (RODRIGUES et al., 2003; RODRIGUES et al., 2006; RODRIGUES et al., 2010; PACHECO et al., 2018).

As espécies acima citadas, são morfologicamente distinguíveis na América do Sul: *T. evansi* não possui o cinetoplasto (CECIL & HOARE, 1954; VENTURA et al., 2000), *T. vivax* é pequena (18,10-22,77µm de comprimento), possui cinetoplasto terminal bem conspícuo e sua membrana ondulante é pouco exuberante (HOARE, 1972; SHAW & LAINSON, 1972; PAIVA et al., 1997; CARVALHO et al., 2008); por sua vez *T. theileri* é grande (30-70 µm de comprimento), em comparação às anteriores e apresenta membrana ondulante bastante definida e expandida (DIKMANS et al., 1957; HOARE, 1964; BÖSER & HEISTER, 1993).

A infecção por *T. vivax* está relacionada principalmente a forma subclínica, mas há relatos de emaciação, febre, anemia, palidez de mucosas, linfonodos aumentados, fraqueza, depressão, anorexia, decúbito lateral e morte. Como alterações hematológicas são reportadas anemia e linfocitose com leucopenia ou leucocitose. Como achados em necropsia, os principais registros são: palidez da carcaça, linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia com acentuação da polpa branca, acúmulo de líquido amarelo citrino nas cavidades peritoneal e pericárdica. Em exames histopatológicos, linfadenite eosinofílica, miocardite com infiltrados multifocais de células mononucleares no interstício associados a pericardite; podendo haver miocardite não supurativa multifocal perivascular e glomerulonefrite não supurativa multifocal subaguda em animais experimentalmente infectados por esse parasita (MASAKE, 1980; PAIVA et al., 2000b; BATISTA et al., 2006).

Em relação a *T. theileri*, escassos relatos clínicos são encontrados, tanto que são considerados agentes oportunistas em casos de coinfeção com outros patógenos (SILVEIRA et al., 1984; BRUM et al., 2012; PACHECO et al., 2018), estando associados com a má nutrição (BITTNER et al., 2021). Em casos de infecção subclínica há registro de perda de peso (AMATO et al., 2019) e queda na produção de leite (CARMICHAEL, 1939). Porém também podendo apresentar infecção cerebral, testicular, esplenomegalia, anemia hemolítica, febre, mucosas pálidas, linfadenomegalia, meningoencefalite supurativa, meningoencefalomielite e aborto (KALINER, 1972; MITCHELL & LONG, 1980; BRAUN et al., 2002; HAJIHASSANI et al., 2020).

No Brasil, a frequência dessas espécies de tripanosomas de bovinos é bastante variada entre as regiões, quando relacionadas ao grau de parasitemia e sororreatividade devido a diversos fatores como a presença de vetores, o método de diagnóstico utilizado, fatores ambientais, ocorrência prévia, manejo de animais e presença de reservatórios (HERRERA et al., 2004; MAJEKODUNMI et al., 2013; NNKO et al., 2017; JAIMES-DUEÑEZ et al., 2018). Neste país apenas os estados da região Norte: Amazonas, Roraima e Acre não há relatos da presença de espécies de tripanosomas em bovinos e um da região sul, o Paraná.

Para *T. vivax* no Brasil, os relatos de frequência parasitológica variam de 0 (FRANGE et al., 2013) a 38,70% (GALIZA et al., 2011), molecular de 1,93 (DYONISIO et al., 2020) a 43,35% (DÁVILA et al., 2003) e sorológica de 0 (SNAK et al., 2018) a 98,35% (CADIOLI et al., 2012).

Em relação ao *T. theileri*, há poucos relatos de prevalência, e estes se restringem ao diagnóstico parasitológico empregando hemoculturas; sendo encontrados índices de 74%, 24,3% e 8,13%, respectivamente por Nunes et al. (1983), Brum et al. (2012) e Pacheco et al. (2018).

Em se tratando de agentes infecciosos, o tratamento, ou mesmo medidas de controle devem se amparar em métodos e técnicas de diagnóstico eficazes. Em relação ao *Trypanosoma* sp. os mais empregados são os métodos de diagnósticos diretos parasitológicos e moleculares, e indiretos como os sorológicos. Os métodos de diagnósticos diretos permitem a evidenciação do parasita ou de seu DNA, são eles: esfregaço sanguíneo e/ou gota espessa corado com derivados do Romanowsky (Giemsa, May-Grunwald, etc), Técnica de Woo (WOO, 1970), Buffy Coat (MURRAY et al., 1977), Hemocultura (HERBERT, 1964; SPLITTER & SOULSBY, 1967; CHIARI et al., 1989) e diagnósticos moleculares (SONGA et al., 1990; GEYSEN et al., 2003; HAMILTON et al., 2008; CORTEZ et al., 2009). Os métodos de diagnóstico indiretos são àqueles que detectam e/ou quantificam os anticorpos produzidos pelo hospedeiro como Ensaio Imunoenzimático (ELISA) (ENGVALL & PERLMANN, 1971; MADRUGA et al., 2006) e Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) (CAMARGO, 1966).

Os métodos moleculares de diagnóstico são os mais recentes e auxiliam na identificação das espécies de tripanosomas que estão acometendo uma população, principalmente relacionados à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e seus derivados: PCR-RFLB (Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição) (GEYSEN et al., 2003), PCR-FFLB (Codificação de Comprimento do Fragmento Fluorescente) (HAMILTON et al., 2008), PCR convencional (CORTEZ et al., 2009), PCR em tempo real (SILBERMAYR et al., 2013) e por meio de Amplificação Isotérmica Mediada por Loop (LAMP) (CADIOLI et al., 2015). Por meio

de análises moleculares, também é possível determinar seus genótipos e variações antigênicas, o que permite identificar diferenças entre as cepas em relação a sua patogenicidade (RODRIGUES et al., 2010; GARCIA et al., 2014).

Após os primeiros registros da ocorrência de *Trypanosoma* na região do Pantanal (SILVA et al., 1996; PAIVA et al., 1997; MADRUGA et al., 2006) há mais de 25 anos; a situação da parasitemia nos animais ou mesmo nos rebanhos não é conhecida. Considerando a importância da atividade pecuária na economia do Estado, é justificável um estudo fundamentado em um delinamento amostral bem como empregando métodos de diagnóstico parasitológico direto (técnica de Woo, seguido de Buffy Coat para amostras positivas), molecular (PCR-FFLB) e indireto por sorologia (ELISA). Com essas abordagens buscou-se determinar a prevalência das espécies de *Trypanosoma* spp. infectando bovinos na região do Pantanal, assim com eventual *status* epidemiológico da infecção.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Trypanosoma vivax*

Nas condições ambientais na África, a *T. vivax* é transmitida por moscas tsé-tsé (*Glossina* spp.), o seu vetor biológico, que atua disseminando entre os animais ungulados (HOARE, 1972). Na América do Sul, a infecção por *T. vivax* em bovinos é amplamente difundida por meio de transmissão mecânica com relatos na Colômbia, Venezuela, Guiana Francesa, Bolívia, Paraguai, Brasil, Argentina e Equador; parasitando bovinos, búfalos, ovinos e equinos (PAIVA et al., 1997; MONZÓN et al., 2008; GARCIA et al., 2014; CHÁVEZ-LARREA et al., 2020).

Os dípteros hematófagos como os tabanídeos, são os de maior importância na América do Sul, com maior incidência da transmissão nos períodos de proliferação dos vetores, que acontece nos períodos quentes e úmidos (BARROS, 2001; JACKSON et al., 2015). Em relação à participação de *Stomoxys calcitrans* e *Haematobia irritans* na transmissão de *T. vivax*; ainda não houve comprovação que os sustentem como vetores dessa espécie, embora seja altamente sugestivo e com relato de possível transmissão (SALAS et al., 2017). Alguns autores conjecturam

a transmissão por mosquitos das famílias Culicidae e Simuliidae de forma mecânica de *T. vivax* entre os animais (RUIZ-MARTINEZ, 1971; CORDOVES et al., 1982). Outro meio de transmissão de *T. vivax* é via iatrogênica por compartilhamento de seringas durante a aplicação de medicamentos, principalmente pelo manejo de injeção da ocitocina nas fêmeas bovinas (BASTOS et al., 2017), em sistema de produção de leite; prática discutível, mas amplamente disseminada. A transmissão via transplacentária com consequência no desenvolvimento da infecção perinatal, deve também ser considerada como de importância epidemiológica (OGWU et al., 1986; MELÉNDEZ et al., 1993).

Nos casos em que há manifestação clínicas atribuídas a *T. vivax*, os sintomas mais frequentemente relatados são: emaciação, febre, perdas reprodutivas, aborto, distocia, morte neonatal, teratogenia, diminuição da produção de leite, agalaxia, lacrimejamento, palidez de mucosas, icterícia, diarreia, sinais neurológicos como dismetria, ataxia, fraqueza muscular, ptialismo, linfadenomegalia, edema submandibular, hemorragias e por fim a morte (SHAW & LAINSON, 1972; PEREIRA & DE ABREU, 1978; GARDINER et al., 1989; SILVA et al., 1999; CADIOLI et al., 2012). No entanto, pela generalidade dos sintomas, esses sinais clínicos podem estar relacionados aos outros patógenos que atuam como etiologia primária nos bovinos, enquanto que a tripanosomíase possa estar atuando como agente oportunista ou mesmo em coinfeção (PAIVA et al., 2000a; GUEDES JUNIOR et al., 2008; LOPES et al., 2018; ZANATTO et al., 2019).

Considerando aspectos biológicos distintos entre as infecções nos continentes africanos e americanos, foram realizadas comparações genéticas relacionadas com *T. vivax* de diversas localidades do Brasil, em que foi mostrando as primeiras evidências genéticas da proximidade dos isolados sul-americanos, com os da Nigéria, região do Oeste da África (VENTURA et al., 2001). Porém não foi evidenciado polimorfismo significativo entre as cepas desses continentes (CORTEZ et al., 2006). Garcia et al. (2014) realizaram a análise por microssatélites de cepas de *T. vivax* de animais assintomáticos e de casos letais e constatou que no Brasil as cepas são clonais, ainda que existam genótipos diferentes, porém não

encontraram forte associação entre os genótipos, a espécie hospedeira, virulência e patogenicidade.

No Brasil, *T. vivax* vem sendo relatada desde 1946 (BOULHOSA, 1946) e tem sido registrado em todas as regiões no país: Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, sendo atribuído a ocorrência de surtos ou apenas como achados laboratoriais sem relação com manifestações clínicas.

2.2. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Brasil

O primeiro relato de infecção por *Trypanosoma vivax* em bovinos no Brasil foi realizado por Boulhosa (1946), no estado do Pará, que sugeriu que a introdução deste parasita tenha ocorrido pela importação de bovinos do Oeste da África, o que posteriormente foi demonstrado a proximidade genética entre isolados africanos e sul-americanos (CORTEZ et al.; 2006; GARCIA et al., 2014), baseados em estudos comparativos filogenéticos entre isolados de *T. vivax* nesses continentes.

O segundo relato no Brasil, também no estado do Pará, de infecção por *T. vivax*, ocorreu 26 anos após o primeiro, em um bubalino que embora se alimentava bem, não ganhava peso, realizaram o diagnóstico parasitológico, em que foi identificado e classificado pela morfometria, formas tripomastigotas de *T. vivax* em sangue periférico do animal (SHAW & LAINSON, 1972).

No Amapá o primeiro relato de infecção por *T. vivax* em animais ocorreu em uma propriedade rural concomitantemente a outras quatro no Pará, em animais das raças Gir, Holandês vermelho e branco, mestiços, e também em ovinos, com confirmação parasitológica, os autores não descartaram a possibilidade de outras etiologias estarem presentes; como doenças virais, bacterianas ou outras, pois os animais apresentavam sintomas de emagrecimento, lacrimejamento, corrimento nasal, temperatura retal normal e febre alternadamente, edema de barbelas, anemia, palidez de mucosas, prostração, andar cambaleante, partos prematuros e nascimento de bezerros fracos, sendo sugerido que mesmo na presença de *T. vivax* nas fases febris, este agente pode ser uma espécie não produtora de sintomas notáveis (PEREIRA & DE ABREU, 1978).

Em 1981 foi relatado, em uma fazenda no Pará, mortes em bubalinos com causa desconhecida em período de 3 anos caracterizada por fraqueza, perda de peso e mortes. Em animais com esses sintomas foi encontrada *T. vivax* em esfregaços sanguíneos, bem como naqueles sem os sintomas por meio da prova biológica em cordeiros livres do parasita, de maneira intraperitoneal (LANHAM et al., 1981). Neste mesmo período foi detectado em um rebanho bubalino, no mesmo estado, por esfregaço sanguíneo, 40% dos bezerros e 20% das novilhas e adultos infectados por *T. vivax*, porém não foi observado morbidade ou mortalidade nos animais nesse período, atribuindo esse fato a possibilidade da baixa patogenicidade do parasita estudado (SERRA FREIRE et al., 1981a). Ainda neste período, foi relatado por Serra Freire (1981b), no estado do Amapá, em uma propriedade rural, em que 25% dos animais examinados estavam portadores com *T. vivax* em esfregaços sanguíneos, neste caso o autor reporta elevada mortalidade no rebanho, e considerou que este isolado seria mais patogênico.

O primeiro relato ao Centro-Oeste do Brasil, então estado de Mato Grosso, foi realizado por Wells et al. (1977), empregando teste sorológico por Imunofluorescência Indireta (IFI) em 666 bovinos, estimou a prevalência em 54% das amostras, porém os dados são questionáveis uma vez que podem ocorrer reações cruzadas com *T. theileri* por meio desta técnica (FERENC et al., 1990). Em 1995 foi confirmada infecção de bovinos por *T. vivax* no Pantanal por Silva et al. (1996) e em 1996 foi relatado um surto por *T. vivax* no Pantanal de Poconé, no Mato Grosso, sendo reportada uma prevalência parasitológica de 34,48% em bovinos zebuínos e mestiços.

A dispersão de *T. vivax* no Pantanal, atingiu o estado de Mato Grosso do Sul, Paiva et al. (1997), como achado parasitológico em bovinos na região do Pantanal de Miranda, e não relacionáveis à sintomas específicos atribuíveis ao agente parasitário. Em animais necropsiados, foram observadas com mais frequência: fibrose intersticial difusa e peribronquiolar, enfisema pulmonar com formação de tecido osteoide (calcinose) e meningoencefalite não supurativa difusa com áreas de malácia. A calcinose foi atribuída a ingestão de *Solanum*

malacoxylon, conhecida popularmente como espichadeira, considerada tóxica para animais, no entanto, os achados neurológicos não estão relacionados à calcinose, mas provavelmente compatíveis com outras doenças comuns na região como a meningoencefalite por Herpes Vírus bovino tipo 5, raiva e polioencefalomalacia (BARROS et al., 2006).

Silva et al. (1999) relataram a infecção por tripanosomas em 62 bovinos, sendo 45 de corte das raças Nelore e 17 de leiteiros mestiços das raças Nelore com Holstein Friesian no Pantanal, fronteira com Bolívia e Corumbá, com mortalidade de animais, apresentando anemia, leucopenia, inapetência, perda de peso, lacrimejamento, diarreia, abortos no terço final da gestação e retenção de placenta. Sinais estes também compatíveis com outras etiologias que ocorrem na região do Pantanal sul-mato-grossense como a Tristeza Parasitária Bovina - complexo Babesiose e Anaplasmoze (MADRUGA et al., 1984; MADRUGA et al., 1986), Leptospirose (FAVERO et al., 2001), Brucelose (CHATE et al., 2009), Diarreia Viral Bovina (PELLEGRIN et al., 1997) e Intoxicação por plantas tóxicas.

Os achados parasitológicos de *T. vivax* podem não ter significado clínico e não ser a causa principal das sintomatologias clínicas demonstradas pelos animais no Pantanal (PAIVA et al., 2000a). Paiva et al. (2000b) avaliaram por indução de infecção em animais experimentais empregando um isolado de *T. vivax* e concluíram que bovinos em boas condições nutricional e sanitárias superam a infecção e, que provavelmente, esse agente não seja capaz de manifestar sintomas em animais saudáveis e bem manejados, no entanto podem atuar como agentes oportunistas em casos de patologias co-ocorrentes.

Outros relatos em propriedades no Pantanal, como os que relacionaram como sendo tripanosomíase em bovinos, na região de Aquidauana, em que se atribui morte perinatal (BARBOSA JÚNIOR et al.; 2001), outro envolvendo a investigação sobre *T. vivax* em bovinos, bubalinos e ovinos, foi constatado parasitemia em apenas 1 búfalo e 1 vaca, não sendo registrados sinais clínicos nos animais. Por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi constatado que 34,8%

dos búfalos, 44,7% dos bovinos e 37,3% em ovinos, estavam portadores *T. vivax* (DÁVILA et al.; 2003).

. O primeiro relato na região Nordeste do Brasil por Riet-Correa et al. (2003) ocorreu em bovinos leiteiros, em Catolé do Rocha na Paraíba. Batista et al. (2007) relataram novamente casos 64 bovinos leiteiros, na mesma localidade, em raças pardo-suíça e mestiça, registrando mortalidade de vacas, sendo que oito apresentaram sinais neurológicos caracterizados por incoordenação, hipermetria, tremores musculares, fasciculações, opistótono, cegueira e estrabismo, que ocorreu no ano de 2002 entre maio e agosto. Relataram uma série de alterações no sistema nervoso central como meningites, meningoencefalite, meningoencefalomielite e áreas de malácia; tais sintomas e achados podem estar relacionados com outros agentes infecciosos que causam essas mesmas alterações no sistema nervoso central (BARROS et al., 2006). Ao final do surto, reportaram que apenas apenas dois animais eram reagentes pela técnica de ELISA, sugerindo que na região semiárida não é uma área endêmica para *T. vivax* e que os animais poderiam apresentarem novos surtos por esse parasita.

Em agosto de 2003, foi relatado em Itapecuru-Mirim, no Maranhão, estado fronteiriço com Pará e Tocantins, em uma fazenda de produção de leite, uma doença que estava acometendo bezerros, caracterizada por debilidade, anemia, palidez das mucosas oral e conjuntival, letargia e fraqueza. Nas amostras de sangue coletadas apenas 1 bezerro era portador de *T. vivax*, em que veio à óbito em poucos dias. Este foi o primeiro relato de infecção por *T. vivax* no estado do Maranhão (FEITOSA et al., 2004; GUERRA et al., 2008).

No estado do Tocantins, Linhares et al. (2006), realizaram o primeiro relato tripanosomíase em um rebanho bovino da raça Brahman provenientes de São Paulo, no município de Formoso do Araguaí. Os animais, após 6 meses na propriedade, apresentaram abortos, debilidade, mortalidade, palidez de mucosas, apatia, edema de barbela, icterícia, volume globular abaixo dos valores de referência e parasitemia por *T. vivax*. Neste estudo foi levantado a possibilidade de a região ser área enzoótica, e que o parasita já estava presente em outros

mamíferos silvestres, porém como foi introduzido bovinos de outra localidade e como possivelmente nunca entraram em contato com esse parasita, relacionaram o surto com a tripanosomíase. Não houve mais estudos e nem surtos neste estado, portanto não se sabe a situação atual de *T. vivax* no estado do Tocantins.

Em Mato Grosso do Sul, cerca de dez anos após os primeiros relatos, Madruga et al. (2006) realizaram estudo epidemiológico empregando técnica sorológica de ELISA para *T. vivax* em seis municípios na região do Pantanal de Mato Grosso do Sul (Corumbá, Miranda, Aquidauana, Rio Negro, Rio Verde e Porto Murtinho) e em cinco regiões presentes na Amazônia do estado do Pará (Ilha de Marajó, Região Metropolitana de Belém, sudeste, nordeste e sudoeste). Dentre as localidades, a maior prevalência de *T. vivax* observada foi de 71,9% em animais de um rebanho bovino em Corumbá e a menor prevalência em Rio Negro com 28,1%, sendo maiores que aquelas encontradas nas regiões do estado do Pará, que variou de 18,9 a 69,3%, Madruga et al. (2006) afirmaram que o Pantanal de Mato Grosso do Sul seria uma área endêmica para *T. vivax*.

Martins et al. (2008) realizaram um estudo sobre a dinâmica de infecção de *T. vivax* em um rebanho bovino mantido na área de transição entre Pantanal e o Planalto de Mato Grosso do Sul, em Miranda, buscaram avaliar a possibilidade do transporte da *T. vivax* para fora das zonas úmidas e com isso provocar surtos de tripanosomíase, porém após dois anos de investigação, não observaram qualquer impacto sanitário, mesmo com a variação sazonal de *T. vivax*, ao final concluíram que *T. vivax* possui potencial em espalhar a infecção sob nutrição inadequada e estresse, se houverem os vetores.

Batista et al. (2008) reportam que, entre maio de 2005 a novembro de 2006, nos municípios de São José em 36 vacas e Belém do Brejo da Cruz em 75 vacas, ambos ocorreram em bovinos leiteiros distribuídos entre as raças pardo-suiça e mestiça, além disso os produtores relataram um aumento do número de vetores tabanídeos e *Stomoxys* sp. no período de maio e julho de 2005 e 2006. O diagnóstico foi realizado por meio de esfregaços sanguíneos da capa leucocitária em que 15/36 e 6/20, respectivamente de São José e Belém do Brejo da Cruz, com

posterior confirmação por PCR para *T. vivax*. Os autores afirmaram que esses surtos teriam ocorrido por ser área de instabilidade enzoótica, uma vez que na região semiárida, devido aos períodos longos de secas e altas temperaturas, não há um favorecimento de proliferação dos vetores durante todo o ano.

No estado de Minas Gerais o primeiro relato foi realizado por Carvalho et al. (2008) no município de Igarapé em agosto de 2007, em um animal com presença de formas tripomastigotas de *T. vivax* em esfregaço sanguíneo.

Guedes Junior et al. (2008) em que realizaram uma pesquisa de *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia burgdorferi* em bovinos, nas cidades de Castanhal e São Miguel do Guamá, no Pará, constataram reatividade de 93,1% para *T. vivax*, confirmando a presença do agente no Estado.

Abrão et al. (2009) reportaram mortes, abortos, redução em 27% na produção de leite e 45% na taxa de prenhez, associado aos custos de tratamentos com aceturato de diminazeno impactaram a produção na propriedade. De 76 vacas avaliadas, 25 foram diagnosticadas infectadas por *T. vivax* pela técnica de Woo que também foram positivas na PCR. Neste período 14 vacas abortaram e 2 bezerros morreram, 46 adoeceram e 14 morreram, elas apresentavam anemia, febre, mucosas pálidas, anorexia, linfadenomegalia, alteração cardiopulmonar de frequências aumentadas, apatia e emagrecimento progressivo. Dos animais que vieram à óbito, 4 foram necropsiados e na histopatologia os principais achados estavam relacionados com hepatite piogranulomatosa necrotizante multifocal, hiperplasia de folículo linfóide intensa e baço com hiperplasia de polpa branca com necroses multifocais, além de miocardite e linfadenopatia. Este surto acreditou-se à tripanosomíase.

Batista et al. (2009) prosseguindo com os relatos dos casos em Bélem do Brejo Cruz, Catolé do Rocha e Brejo dos Santos, a ocorrência de *T. vivax* em ovinos e caprinos, no ano de 2008, coincidentes com os surtos em bovinos, foram constatados animais parasitados assintomáticos parasitados e outros com sinais clínicos atribuídos ao agente. Em amostras de esfregaço da capa leucocitária

27,22% (55/202) estavam positivos, sendo 25,4% dos ovinos e 29,7% dos caprinos. Os sinais clínicos observados foram apatia, mucosas pálidas, linfadenomegalia, fraqueza, perda de peso opacidade da córnea, cegueira e aborto.

No estado do Rio Grande do Sul, no município de São Pedro, Silva et al. (2009) relataram infecção por *T. vivax* em uma vaca prenhe, manifestando sinais de incoordenação motora, icterícia, agitação; quando do parto houve morte fetal. Os autores afirmam que não foi detectada parasitemia nos demais animais da propriedade, mesmo empregando a PCR; como a propriedade não tinha histórico de introdução de animais, concluíram que a infecção teria origem em dípteros hematófagos.

Na Paraíba, município de São João do Rio Peixe, ovinos da raça Santa Inês foram diagnosticados por Galiza et al. (2011) em 2008, relatam os autores que na propriedade havia bovinos e bubalinos portadores de *T. vivax*, porém assintomáticos.

Da Silva et al. (2011) relataram a presença de *T. vivax* em equinos em Caçapava do Sul, RS, os animais apresentavam mucosas pálidas, febre, perda de peso e edema no abdômen, prepúcio ou vulva, registram a morte de três equinos, o diagnóstico foi realizado por meio de exames parasitológicos e por PCR, e posteriormente sequenciamento, revelando com sequências homólogas ao isolado de Miranda, MS (Pantanal) TviBrMi.

Melo et al. (2011), empregando técnicas parasitológicas, esfregaços sanguíneos e *Buffy coat*, e PCR para diagnóstico de *T. vivax* em várias localidades no estado do Maranhão, concluem que em todas as regiões foram encontrados animais portadores de *T. vivax*, porém com prevalência baixa.

O primeiro relato de *T. vivax* no estado de Pernambuco, em uma propriedade de exploração leiteira no município de Itambé, em que 22 bovinos de um total de 80 da propriedade estavam apresentando febre, anorexia, mucosas pálidas, diarreia aquosa com coloração escura, redução da produção de leite, fetos prematuros e abortos. Pelo diagnóstico parasitológico, apenas dois animais tinham parasitemia e pela PCR 22 bovinos foram positivos para *T. vivax*, pelo

sequenciamento foi constatado 99% de identidade com os isolados de Aquidauana-MS, Belém-PA e Pantanal de Poconé-MT (PIMENTEL et al., 2012).

Cadioli et al. (2012) realizaram o primeiro relato de *T. vivax* em rebanho de exploração leiteira no município de Lins, no estado de São Paulo, ocorrido em 2008, no qual os animais apresentaram febre, icterícia, diminuição da produção de leite, perda de peso, diarreia profusa, abortos, anemia, leucocitose, hiperfibrigenemia, sinais neurológicos como dismetria, ataxia, fraqueza muscular, além de ptialismo, linfonodomegalia, edema submandular e havendo a morte de 31 animais entre vacas e bezerros em um rebanho com 1080 bovinos. O diagnóstico foi realizado por esfregaços sanguíneos e a confirmação da espécie *T. vivax* por PCR. Das amostras coletadas 98,36% foram sororeagentes pelo ELISA para IgG anti-*T. vivax*. No histórico da propriedade, meses antes, havia a introdução de 21 bovinos provenientes de uma propriedade rural do município de Ivinhema do estado de Mato Grosso do Sul, e que na propriedade havia grande atividade de moscas hematófagas, como *Haematobia irritans* e *Stomoxys calcitrans*.

No estado do Ceará, Oliveira et al. (2012) relataram um caso de infecção por *T. vivax* em caprino apresentando inapetência, anorexia, desidratação, hipertermia, edema testicular e rigidez abdominal; diagnosticado por esfregaço sanguíneo. Outro registro por Batista et al. (2017), em vacas leiteiras, identificando por meio de esfregaço da capa leucocitária 48 animais positivos para *T. vivax* de um total de 210 animais (22,85%), com confirmação por PCR.

Bastos et al. (2013) registram ocorrência de *T. vivax* em Barra do Garças, estado do Mato Grosso, em propriedade após a aquisição de 200 fêmeas bovinas de raças com aptidão leiteiras oriundas de outras localidades de Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais. Os animais introduzidos apresentaram sintomas de incoordenação motora, mucosas hipocoradas, anorexia, mastite persistente, queda na produção leiteira, agalaxia, emagrecimento progressivo, aborto, retenção de placenta e óbito de 19 animais. Os autores informam que a via de contágio mais provável foi iatrogênica pela injeção de ocitocina antes da ordenha diária, empregando a mesma agulha e seringa nos animais.

No estado da Paraíba, Costa et al. (2013) examinaram 509 vacas, em 37 propriedades, empregando de Imunofluorescência Indireta, e não encontraram animais reagentes para *T. vivax*.

Frangé et al. (2013) realizaram um estudo epidemiológico na microrregião de Uberada em Minas Gerais, com 327 bovinos, avaliando parasitologicamente e sorologicamente, nenhum animal foi positivo pela técnica de Woo e *Buffy Coat*, e pela Imunofluorescência Indireta foi bastante variável as prevalências, sendo do município de Uberaba chegando a 24,4% de animais reagentes e Veríssimo 17%, nas demais a prevalência foi inferior a 9%. Em propriedades leiteiras onde havia um intenso manejo com aplicação de vacinas e medicamentos, reutilizando agulhas para tal fim, a soroprevalência chegou a 75% nas propriedades leiteiras e 80% das que não realizava a troca de agulhas na aplicação de vacinas e/ou medicamentos.

Guerra et al. (2013), no estado de Pernambuco, processaram por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) 2053 amostras de soro de bovinos, colhidas em 4 mesorregiões do estado: sertão, agreste, zona da mata e litoral. Destas amostras, 11,9% oriundas do litoral, 12,34% da zona da mata, 14% do agreste e 15,99% do sertão, foram respectivamente reagentes para *T. vivax*. Os autores ainda destacam que alguns rebanhos são mantidos em áreas comuns, ovinos, caprinos e bubalinos. Os autores ainda concluem que o estado de Pernambuco é área de instabilidade enzoótica e que a *T. vivax* é endêmico e está difundido no estado.

No estado do Alagoas, Santos (2013) processaram pela RIFI, 199 amostras colhidas em 4 municípios, Penedo, União dos Palmares, Viçosa e Igreja Nova, resultaram em 28,1% sororeagentes em Penedo, 10,1% em União dos Palmares, 29,6% em Viçosa e 41,2% em Igreja Nova.

No sul do Brasil, em Santa Catarina, Fávero et al. (2015) há um único relato de *T. vivax* em uma cabra, na localidade de Guatambu, oeste do estado. Os autores não relataram a existência de sinais clínicos, sendo um achado foi acidental, mas que registra a existência do agente na região.

No estado da Bahia, Moreira et al. (2015), relataram no município de Ibirataia, em um rebanho leiteiro, animais apresentando sintomas como diminuição na produção de leite, depressão, apatia, febre e perda de peso. Em diagnóstico por esfregaços sanguíneos 19/82 estavam positivos para *T. vivax*. Os autores atribuem a intensa movimentação de animais na região, assim como aos vetores presentes no local, como responsáveis pela introdução do agente nesta localidade.

Apenas um relato de caso de infecção de *T. vivax* em animais no Rio Grande do Norte, em Mossoró foi relatado por Rodrigues et al. (2015), em asininos. Em amostra com 180 animais, nenhum deles foi positivo pela Técnica de Woo ou microscopia, porém 30 estavam positivos (16,6%) pela PCR. Os animais apresentavam um bom estado corporal, não havia alteração no volume globular, diante desses resultados os autores concluíram que os asininos podem ser reservatórios de *T. vivax*.

Em pesquisas sorológicas empregando a RIFI em amostras de soro de bovinos no estado de Minas Gerais, foram observadas grande amplitude na soropositividade, entre 0,69 e 63% (BARBIERI et al., 2016; MENESES, 2016; GERMANO et al., 2017). Em relato de Reis et al. (2019), entre os anos de 2016 e 2017, amostragens em 30 fazendas com exploração leiteira, no mesmo estado, constataram empregando esfregaços sanguíneos corados de 736 amostras de sangue bovino a presença de *T. vivax* em 24,18% (178) tendo realizado a confirmação da espécie por meio de PCR. Os autores destacam que os animais que apresentavam sinais clínicos, esses eram inespecíficos e alertaram a não exclusão da ocorrência concomitantes de outras etiologias à infecção por *T. vivax*.

Murakami et al. (2016) relataram a presença de *T. vivax*, em uma vaca da raça girolando de 6 anos de idade no município de Franca, em São Paulo, apresentando hiporexia, emagrecimento progressivo, letargia e queda importante na lactação, além disso o animal apresentava taquicardia, taquipneia, desidratação, mucosas hipocoradas, febre, anemia e trombocitopenia. Porém, reconhecem que esses sinais são inespecíficos para serem confirmados unicamente como causados de tripanosomíase.

Na sequência, no mesmo estado, Koether et al. (2017) relataram infecção por *T. vivax* em um rebanho leiteiro onde examinaram 70 indivíduos, sendo confirmado por esfregaço de capa leucocitária 38,6% (27/70) e a espécie confirmada por PCR. Os sintomas foram caracterizados por emagrecimento progressivo, apatia, hiporexia, queda na produção de leite, aborto e morte de 15 vacas. Neste caso, reportaram a existência de infestação por moscas, o uso de agulhas compartilhadas na aplicação de ocitocina e a introdução de animais com origem em várias regiões do país sem uma prévia quarentena.

Em Goiás, dois relatos por Bastos et al. (2017; 2020), no primeiro, relatam infecção por *T. vivax*, ocorrida entre maio de 2015 a janeiro de 2017, em rebanho na cidade de Ipameri, após introdução de 18 vacas provenientes de Minas Gerais, apontam que 56 vacas estavam portadoras, em total 161 animais; destas 12 morreram, 44 permaneceram positivas mesmo após o tratamento e foram descartadas. O segundo relato, sobre infecção em animais nos municípios de Cromínia, Bonfinópolis, Maripotaba, Morrinhos e Quirinópolis; nestes os autores atribuem a origem da infecção ao manejo com uso de ocitocina durante a ordenha pelo compartilhamento de agulha.

Ono et al. (2017) relataram uma ocorrência de *Trypanosoma* spp., na mesorregião da Zona da Mata em Timbaúba (2013) e Paudalho (2014) no Pernambuco, em propriedades leiteiras. Em Timbaúba, de um total de 500 animais, 100 foram amostrados e 25,3% estavam positivos em esfregaços sanguíneos e 37,35% por PCR, os sinais clínicos reportados foram: incoordenação motora, tremores musculares, decúbito, sendo que oito animais morreram. Em Paudalho, em propriedade com histórico de morte de 20 animais, foi realizado exames em 75 bovinos e apenas 3 estavam positivos para *Trypanosoma* sp., 6 para *Anaplasma marginale* e 1 para *Babesia bigemina*; além disso, reportam que pela avaliação clínica havia animais com mastite, broncopneumonia, artrite, afecções podais, alguns com sinais sugestivos de Leucose Enzoótica Bovina e um com paratuberculose diagnosticado por histopatológico. Os autores afirmaram que os animais estavam em condições precárias de manejo sanitário e nutricional, e que

o manejo incluía aplicação de ocitocina com compartilhamento de agulhas e seringas.

Em Sergipe, Vieira et al. (2017) reportaram a infecção por *T. vivax* em 15 bovinos leiteiros em uma propriedade rural no município de São Miguel Aleixo, diagnosticados por métodos parasitológicos, em cinco animais a morfometria das formas parasíticas foram compatíveis para *T. vivax* e pela PCR, 12 animais amplificaram e a sequência obtida apresentou 99% de homologia para *T. vivax*. Os autores atribuem a introdução recente de bovinos de outras localidades como sendo a origem da infecção, e ainda informaram sobre o compartilhamento de seringas e agulhas quando da aplicação diária de ocitocina, previamente a ordenha, o que estaria transmitindo o parasita de maneira iatrogênica.

No estado do Piauí, há um único relato de *T. vivax* (LOPES et al., 2018) no município de Parnaíba, quando observaram sinais de abortamentos, mastites, repetições de estro e hematúria. Suspeitaram de leptospirose, confirmada por teste de soroaglutinação, em 78 animais testados 72 estavam reagentes a algum sorovar de *Leptospira*. Em exame por esfregaço sanguíneo um animal apresentou *T. vivax*, sem apresentar alterações clínicas e em bom estado corporal. Neste também há histórico de ingresso de animais de outras localidades.

Pereira et al. (2018) relataram ocorrência de abortos, recém nascidos fracos, perda progressiva de peso e mortalidade de animais adultos, em uma propriedade leiteira no município de Timon, no Maranhão. Em diagnósticos sorológicos realizados, 82,51% dos animais estavam sororeagentes para *T. vivax*, 95,6% para *Leptospira* spp., e 28,89% para *Neospora caninum*.

Snak et al. (2018) em amostragem de 600 animais, por meio de esfregaços da capa leucocitária e 400 por Reação de Imunofluorescência Indireta nos municípios de Cascavel, Toledo, Marechal Cândido Rondon e Palotina, no estado do Paraná, sendo todas as amostras negativas para *T. vivax*.

Mello et al. (2019) relataram a ocorrência de hemoplasmas de bovinos em uma área endêmica para *T. vivax* e realizam ELISA para este agente também, em 400 animais do Patanal de Nhecolândia, em Mato Grosso do Sul, constatando

sororeatividade em 89,75% dos animais. A elevada prevalência também foi observada por Zanatto et al. (2019) com 70% de sororeatividade no Pantanal e por Ramos et al. (2020) na mesma localidade de Mello et al. (2019) em 400 bovinos, em que foi constatado 98,5% dos animais sororeagentes.

Zanatto et al. (2019) reportam resultados de diagnósticos sorológicos a diversos agentes em rebanho no estado de Mato Grosso do Sul com histórico de desordens reprodutivas, e encontraram animais sororeagentes para *T. vivax*, coinfectados por *Neospora caninum* e *Leptospira* sp., sendo a *N. caninum* a mais prevalente (100%). No mesmo relato, os autores informam resultados de sororeatividade para *T. vivax* em amostras colhidas em bovinos nos estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais, com os respectivos resultados de 55%, 34,4% e 55%. E ainda reportam que os animais apresentavam coinfeções com *Coxiella burnetii*, *Leptospira* spp., Vírus da Diarreia Viral Bovina-1a, Herpesvírus Bovino tipo 1, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*.

Andrade Neto et al. (2019) relataram o monitoramento clínico e laboratorial de 109 bovinos, em propriedades rurais nos estados de Pernambuco e Alagoas. Os autores informam que os animais considerados doentes apresentavam febre, apatia, anorexia, diarreia, emagrecimento progressivo, linfadenopatia, mucosas pálidas, incoordenação motora, agressividade, aborto, queda na produção de leite e mortalidade; e nos diagnósticos sorológicos para *T. vivax* encontraram 94% pelo ELISA, 92% por IFAT, 15% em PCR e 9% nos esfregaços sanguíneos. Considerando o baixo índice de positividade na PCR e nos esfregaços sanguíneos, os autores atribuíram ao uso de diacetato de diminazeno que estavam sendo utilizadas. Concluem que os fatores de risco para as propriedades foram: entrada de animais nas propriedades sem exames prévios e quarentena, manejo de aplicação de ocitocina na ordenha com compartilhamento de agulhas,

Em Goiás, Bastos et al. (2020) realizaram exames laboratoriais pela Técnica do Microhematócrito, em amostras colhidas em 42 propriedades rurais leiteiras distribuídas em 26 municípios de Goiás: Alexânia, Anápolis, Bonfinópolis, Buriti Alegre, Caldas Novas, Campo Alegre de Goiás, Corumbáiba, Cromínia, Edealina,

Gemeleira de Goiás, Goianópolis, Goianésia, Goiatuba, Guapó, Ipameri, Itaberaí, Itauçu, Jataí, Mairipotaba, Mambaí, Morrinhos, Pontalina, Porteirão, Quirinópolis, Santa Bárbara de Goiás e Urutaí. Foram examinadas 4049 amostras, apenas 8,84% (358) estavam positivas para *Trypanosoma* sp.; e destas apenas 20 foram amplificadas pela PCR, usando primers para o gene TviCatL, o que confirmou a presença de *T. vivax* nestas.

No estado do Pará, Dyonisio et al. (2020) pesquisaram a frequência de *T. vivax* em PCR usando amplificação parcial do gene TviCatL em bubalinos no município de Santarém, encontrando apenas 1,93% dos animais positivos (12/621). Na mesma localidade Garcia et al. (2020) relataram entre os períodos de 2008-2017 em bovinos e bubalinos, a ocorrência de *T. vivax* por PCR-FFLB em que a prevalência nos bubalinos foi de 31,46% e em bovinos de 44,26%.

Na região sudeste do estado do Rio de Janeiro foi relatado por Costa et al., 2020 a ocorrência de *T. vivax* em 11 municípios (Piraí, Areal, Valença, Vassouras, Santo Antônio de Pádua, Rio Claro, Cantagalo, Barra do Piraí, Paraíba do Sul, Barra Mansa, Rio das Flores) entre fevereiro de 2016 a dezembro de 2017, os animais apresentaram queda na produção de leite, emagrecimento progressivo, fraqueza, alterações reprodutivas, diarreia, sinais neurológicos, anemia e mortalidade, sendo detectado a presença de *T. vivax* por *Buffy coat*, identificado pela morfometria em microscopia e por PCR. Nos animais mortos que apresentavam sinais neurológicos foram constatadas lesões de meningoencefalite perivascular linfocitocística e miocardite com infiltrado inflamatório intersticial perivascular linfocitocística.

No estado do Espírito Santo o primeiro relato da ocorrência de *T. vivax* foi por Schmith et al. (2020) em propriedade rural no município de Aracruz em 2019, com exploração leiteira e animais da raça girolando; com animais apresentando queda na produção leiteira, febre intermitente, anorexia, apatia, bezerros fracos e mortalidade de adultos após a perda progressiva de peso. Foram detectados *T. vivax* em esfregaços sanguíneos e pela PCR.

Como observado nos relatos acima, a dispersão de *T. vivax* nas diversas regiões do país, após a década de noventa do século passado, pode ser considerado que está amplamente distribuído em todos os estados e biomas do Brasil. O que chama a atenção é o conceito ou percepção, na maioria dos relatos, é que o agente seria extremamente patogênico e até mortal. No entanto alguns aspectos importantes devem ser destacados; o primeiro é que, os relatos quando dos registros iniciais chegam a reportar alta morbidade, porém os sintomas são genéricos e não apenas atribuíveis ao *T. vivax*, visto que inúmeras outras etiopatogenias estão presentes nos rebanhos – o que é citado em alguns artigos de forma clara. O que contribuem para agravamento de sintomas em situações de coinfeções. Um segundo aspecto é que as ocorrências são predominantes em sistemas de exploração leiteira, onde os animais nem sempre tem um manejo sanitário e mesmo nutricional adequado e ainda, aqueles em lactação, são expostos a injeções diárias com ocitocina e, pior, com o uso de agulhas e seringas de forma coletiva, o que seguramente transfere o agente de animal a animal. Outro aspecto, a ser considerado é que a transmissão em nossas condições também acontece mecanicamente por vetores hematófagos, pois recentes relatos sobre explosões de populações de *Stomoxys calcitrans* em áreas vizinhas à usinas de processamento de cana para produção de álcool ou açúcar, em cujos rejeitos as larvas das moscas encontram um substrato adequado para o desenvolvimento. E por por último e não menos importante é observar que após os primeiros relatos, após a introdução na região, os casos clínicos atribuíveis, na maioria das vezes cessam e apenas persistem registros de diagnóstico sorológicos.

Assim, deve-se rever alguns conceitos e “verdades” sobre a tripanosomíase bovina causada por *T. vivax*, revendo paradigmas e construindo um conhecimento sobre o agente nas condições do continente americano; com transmissão exclusivamente mecânica: dípteros hematófagos e agulhas. Visto que até no continente africano a tripanossomíase por *T. vivax* não é considerada como grande patogenia, quando se contrasta com outras espécies ocorrentes na região. Há várias situações encontradas no Brasil relacionadas à infecção por *T. vivax*

simplificado na tabela 1, existem áreas onde ainda não há casos registrados como Amazonas, Rondônia, Roraima, Acre e Paraná.

Tabela 1. Registros de ocorrência de *T. vivax* em animais em diversas regiões do Brasil.

Região	Parasitológico	Sorológico	Molecular	Referências
Norte	31/100 (31%)	NR	NR	Serra Freire et al., 1981a
	PA NR	324/1056 (30.68%)	NR	Madruza et al., 2006
	NR	229/246 (93.08%)	NR	Guedes Junior et al., 2008
	PA NR	NR	55/150 (36.66%)	Garcia et al., 2020
	NR	NR	12/621 (1.93%)	Dyonisio et al., 2020
	AP 8/32 (25%)	NR	NR	Serra Freire et al., 1981b
	TO 3/9 (33.33%)	NR	NR	Linhares et al., 2006
Centro-Oeste	MT NR	359/666 (53.90%)	NR	Wells et al., 1977
	10/29 (34.48%)	NR	NR	Silva et al., 1996
	3/12 (25%)	NR	NR	Bastos et al., 2013
	7/23 (30.43%)	NR	NR	Paiva et al., 1997
	2/489 (0.4%)	NR	212/489 (43.35%)	Dávila et al., 2003
	NR	1405/2508 (56.02%)	NR	Madruza et al., 2006
	MS NR	359/400 (89.75%)	NR	Mello et al., 2019
	NR	7/10 (70%)	NR	Zanatto et al., 2019
	NR	364/400 (91%)	NR	Ramos et al., 2020
	45/312 (14.42%)	86/170 (50.58%)	5/312 (1.6%)	Presente estudo
	NR	11/20 (55%)	NR	Zanatto et al., 2019
	GO 358/4049 (8.84%)	NR	NR	Bastos et al., 2020
	1/31 (3.22%)	NR	NR	Guerra et al., 2008

Tabela 1. Registros de ocorrência de *T. vivax* em animais em diversas regiões do Brasil.

Nordeste	MA	6/559 (1.07%)	NR	14/559 (2.5%)	Melo et al., 2011
		2/183 (1.09%)	151/183 (82.51%)	NR	Pereira et al., 2018
	PB	75/141 (53.19%) - 2002	34/45 (75.5 %) - 2002	NR	Batista et al., 2007
		NR	85/89 (95.5%) - 2003	NR	Batista et al., 2007
		NR	2/85 (2.35%) - 2004	NR	Batista et al., 2007
		21/56 (3.75%)	NR	NR	Batista et al., 2008
	PB	100/425 (23.52%)	NR	NR	Batista et al., 2009
		24/36 (66.66%)	NR	60/155 (38.70%)	Galiza et al., 2011
	PE	2/22 (9.09%)	NR	22/22 (100%)	Pimentel et al., 2012
		NR	286/2053 (13.93%)	NR	Guerra et al., 2013
		21/83 (25.30%)	NR	NR	Ono et al., 2017
		13/96 (13.54%)	90/96 (93.75%)	8/56 (14.28%)	Andrade Neto et al., 2019
	AL	NR	47/199(23.61%)	NR	Santos, 2013
		2/11 (18.18%)	11/11 (100%)	2/11 (18.18%)	Andrade Neto et al., 2019
	BA	19/82 (23.17%)	NR	NR	Moreira et al., 2015
	RN	30/180 (16.66%)	NR	NR	Rodrigues et al., 2015
	SE	9/15 (60%)	NR	12/15 (80%)	Vieira et al., 2017
	PI	1/78 (1.28%)	NR	NR	Lopes et al., 2018

Tabela 1. Registros de ocorrência de *T. vivax* em animais em diversas regiões do Brasil.

Sudeste	MG		25/70 (35.71%)	136/396 (34.34%)	25/70 (35.71%)	Abrão et al., 2009 e Cuglovici et al., 2010
			0/327 (0%)	53/327 (16.20%)	NR	Frange et al., 2013
			NR	50/2118 (2.36%)	NR	Meneses, 2016
			NR	64/101 (63.36%)	NR	Germano et al., 2017
			178/971 (18.33%)	NR	NR	Reis et al., 2019
	SP		NR	599/609 (98.35%)	NR	Cadioli et al., 2012
			27/70 (38.57%)	NR	20/30 (66.66%)	Koether et al., 2017
			NR	11/32 (34.37%)	NR	Zanatto et al., 2019
		ES	10/22 (45.45%)	NR	NR	Schmith et al., 2020
		RJ	26/268 (9.7%)	NR	46/246 (18.69%)	Costa et al., 2020
Sul	RS	4/12	NR	4/12	da Silva et al., 2011	
	SC	1/5 (20%)	NR	NR	Fávero et al., 2015	

PA: Pará, AP: Amapá, TO: Tocantins. MT: Mato Grosso, MS: Mato Grosso do Sul, GO: Goiás, MA: Maranhão, PB: Paraíba, PE: Pernambuco, AL: Alagoas, BA: Bahia, RN: Rio Grande do Norte, SE: Sergipe, PI: Piauí, MG: Minas Gerais, SP: São Paulo, ES: Espírito Santo, RJ: Rio de Janeiro, RS: Rio Grande do Sul, SC: Santa Catarina. NR: Não Realizado.

Diante dessa realidade, são necessários estudos clínicos e epidemiológicos de longo prazo para se avaliar o verdadeiro impacto que *T. vivax* possui em rebanhos bovinos no Brasil, uma vez que cada região possui diferenças ambientais, de manejo e até mesmo culturais que podem influenciar na dinâmica da infecção do parasita.

2.3. *Trypanosoma theileri* no Brasil

Trypanosoma theileri é classificado ao subgênero *Megatrypanum*, seção Stercoraria (BÖSE & HEISTER, 1993), acometendo preferencialmente animais biungulados. Porém, relatos recentes indicam que se adaptaram em um novo hospedeiro, os morcegos, relacionado ao isolado de *T. theileri* de bovinos do Brasil e Venezuela, em que chegou em 61,5% de positividade nos morcegos examinados (RAMÍREZ et al., 2014; JAIMES-DUEÑEZ et al., 2020). Este parasita possui elevada prevalência no Brasil e é distribuído mundialmente (RODRIGUES et al., 2010).

Embora a maioria dos registros estão relacionados com casos assintomáticos (CROSS et al., 1971; NIAK, 1978), pode apresentar alguma patogenicidade em animais que apresentam imunodeficiência ou como parasita oportunista em situações de coinfeção com outros agentes (CARMICHAEL, 1939; SILVEIRA et al., 1984; DOHERTY et al., 1993; VILLA et al., 2008; SOOD et al., 2011).

Na América do Sul, os isolados de *T. theileri* em bovinos apresentam variações genéticas entre eles, caracterizando-se como populações clonais inseridas apenas em uma mesma região, independentemente da raça dos bovinos; além disso, tais isolados são filogeneticamente próximos dos isolados de búfalos, cervídeos e antílopes nas mesmas regiões (RODRIGUES et al., 2010).

Os tabanídeos são muito importantes na sua transmissão, pois se constituem em vetores biológicos, ocorrendo o desenvolvimento das formas metacíclicas no intestino do inseto, forma estercorária, e com a sua eliminação pelas fezes é a forma de contágio dos hospedeiros durante o repasto sanguíneo (BÖSE, 1987; BÖSE & HEISTER, 1993).

Não tem sido caracterizado como um agente parasitário causador de perdas econômicas importantes ou mesmo se atribuem manifestações clínicas, pois a maioria dos casos relatados são subclínicos, bem como os casos em que há alguma sintomatologia eles são escassos e se resumem a febre e apatia (SILVEIRA

et al., 1984; BRUM et al., 2012; PACHECO et al., 2018; HAJIHASSANI et al., 2020; BITTNER et al., 2021).

A parasitemia de *T. theileri* se caracteriza por baixa intensidade em rebanhos bovinos pois de forma geral a infecção é subpatente, sendo rara a detecção em esfregaços sanguíneos ou mesmo pela técnica de Woo, sendo mais frequente encontrado quando de hemoculturas ou por PCR (NUNES et al., 1983; RODRIGUES et al., 2003; HAJIHASSANI et al., 2020).

Os relatos de casos ocorridos no Brasil são poucos, sendo o primeiro relatado por Carini (1911) no estado de São Paulo, posteriormente Correa et al. (1980) registram um caso em bezerro. Ogassawara et al. (1981) relataram um caso de infecção em uma vaca em Bragança Paulista, São Paulo, com alta parasitemia, o animal apresentava distúrbios cardiorespiratórios e digestivos, mesmo após tratamento com diamidina (Beronal), tendo a parasitemia desaparecido em dois dias, no entanto o animal foi a óbito. À necropsia reportam lesões de hepatite apostematosa, endocardite valvular, pneumonia bilateral, esplenite apostematosa e *Eurytrema coelomaticum* no pâncreas. Nos exames histopatológicos constataram miocardite embólico-purulenta, tromboendocardite bacteriana, pneumonia abcedante, cirrose biliar e hepática purulenta abcedante, nefrite embólico-purulenta, esplenite purulenta abcedante e hiperplasia linforreticular. Os autores concluem que não foi possível determinar de forma absoluta a influência da *T. theileri* nas alterações clínicas e patológicas observadas (OGASSAWARA et al., 1981).

Em Mato Grosso do Sul, Silveira et al. (1984) relataram um caso em uma bezerra da raça holandesa com 8 meses, com diagnóstico de babesiose, no processo de tratamento foi realizada transfusões sanguíneas. O animal apresentou melhora e dias depois houve piora do quadro clínico e o animal veio a óbito. Foram observadas inúmeras formas de *T. theileri* em esfregaços sanguíneos e em *imprints* de órgãos quando da necropsia, foram observados: palidez das mucosas, tecidos subcutâneos e órgãos internos; edema nos tecidos subcutâneos, linfonodos, interstício pulmonar, cápsula renal, serosa do intestino delgado, abomaso e

ureteres; presença de fluídos nas cavidades abdominal, torácica, pericárdica e articulares; petéquias na parede do endocárdio e na serosa da vesícula biliar foram observadas. Na histopatologia evidenciou-se edema generalizado, inclusive em sistema nervoso central na região perineural, degeneração de hepatócitos com retenção biliar nos canalículos sinusóides; linfonodos com congestão de capilares sinusóides e aumento de macrófagos; edema pulmonar intersticial e alveolar e trombos de fibrina nos vasos linfáticos nos septos interlobulares dos pulmões. Os autores concluem que o estado caquético do animal associado a hipoproteïnemia causada por helmintos gastrointestinais favoreceu que a infecção acidental ocorrida por *T. theileri*, o que levou o animal à óbito.

Animais portadores e assintomáticos diagnosticados por hemocultura para *T. theileri* foi reportado por Nunes et al. (1983) com 74% dos bovinos portadores; e ainda relataram que 21,05% das amostras foram positivas pela técnica de Woo, em um rebanho bovino em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Brum et al. (2012) registraram que em 24,3% das amostras, processadas em hemocultura, colhidas em animais no município de Caçapava do Sul, no Rio Grande do Sul estavam positivas para *T. theileri*. Pacheco et al. (2018) processando amostras colhidas em vacas leiteiras em Ji-Paraná, Rondônia entre os anos de 2012-2013, estimaram a prevalência em 4,06% nos exames de hemocultura e 12,19% por PCRTthCATL específico para *T. theileri* baseado no gene da Catepsina L-like.

Outros casos clínicos possivelmente associados com a infecção por *T. theileri* vem sendo relatados, como o reportado por Bittner et al. (2021) que registra que desnutrição ocasionada pela insuficiente suplementação de minerais, infecção por outros patógenos como *Sarcocystis* sp., mastites, infecções virais por Parapoxvírus associados a infecção com *T. theileri*, podem ter ocasionado mortes em vacas leiteiras que estavam caquéticas, com distrofia muscular e edema subcutâneo decorrentes principalmente da deficiência crônica de energia, proteínas, selênio, cobre e potencialmente associados à infecção oportunista por *T. theileri*. Animais que apresentam anemia, anorexia, apatia, febre, linfadenomegalia e responsivos ao tratamento com diaceturato de diminazeno,

também podem estar relacionados à infecção por *T. theileri* (PACHECO et al., 2018; GARCIA et al., 2020; HAJIHASSANI et al., 2020).

Não há estudos recentes relacionados à prevalência de *T. theileri*, sua importância clínica e epidemiológica relacionado a esse parasita no Brasil, assim como no mundo. Além disso é importante ressaltar que em todos os casos suspeitos de tripanosomíase bovina, em nenhum deles foi investigado a presença de *T. theileri*, o que nos leva a questionar sobre a sua subnotificação, os diagnósticos empregados e o real impacto em associação com outros patógenos em animais debilitados.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrão DC, Carvalho, AU, Filho EJF, Saturnino HM, Ribeiro MFB. Impacto econômico causado por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no estado de Minas Gerais. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2009, Belo Horizonte. Ci Anim Bras. 2009; Suppl 1:672-676
- Andrade Neto AQ, Mendonça CL, Souto RJC, Sampaio PH, Fidelis Junior OL, André MR, Machado RZ, Afonso JAB. Diagnostic, Clinical and Epidemiological aspects of dairy cows naturally infected by *Trypanosoma vivax* in the states of Pernambuco and Alagoas, Brazil. Braz J Vet Med. 2019;41(1):e094319.
- Amato B, Mira F, Lo Presti VDM, Guercio A, Russotto L, Gucciardi F, Vitale M, Lena A, Loria GR, Puleio R, Cannella V. A case of bovine trypanosomiasis caused by *Trypanosoma theileri* in Sicily, Italy. Parasitol Res. 2019;118(9):2723-2727.
- Barbieri JM, Blanco YAC, Bruhn FRP. Guimarães AM. Seroprevalence of *Trypanosoma vivax*, *Anaplasma marginale*, and *Babesia bovis* in dairy cattle. Cienc Anim Bras. 2016;17(4):564-573
- Barbosa Júnior NS, Madruga CR, Osório ALAR, Ribeiro LRR, Almeida RFC. Descrição de surto de tripanossomose bovina por *Trypanosoma vivax*, com morte perinatal no Pantanal de Aquidauana, MS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, Campo Grande, 2001. p.135.
- Barros ATM. Seasonality and relative abundance of Tabanidae (Diptera) captured on horses in the Pantanal, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001;96(7):917-923.
- Barros CSL, Driemeier D, Dutra IS, Lemos RAA. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil. 1 ed. Montes Claros, MG: Vallé, 2006, 207p.
- Bastos TSA, Linhares GFC, Freitas TMS, Silva LAF, Cunha PHJ. Surto de Tripanossomose Bovina desencadeado após manejo inadequado durante aplicação de medicamento endovenoso. Ars Vet. 2013;29(4):63.
- Bastos TSA, Faria AM, Madrid DMC, Bessa LC, Linhares GFC, Fidelis Junior OL, Sampaio PH, Cruz BC, Cruvinel LB, Nicaretta JE, Machado RZ, Costa AJ, Lopes WDZ. First outbreak and subsequent cases of *Trypanosoma vivax* in the state of Goiás, Brazil. Braz J Vet Parasitol. 2017;26(3):366-371.
- Bastos TSA, Faria AM, Couto LFM, Nicaretta JE, Cavalcante ASA, Zapa DMB, Ferreira LL, Heller LM, Madrid DMC, Cruvinel LB, Rossi GAM, Soares VE, Cadioli FA, Lopes WDZ. Epidemiological and molecular identification of *Trypanosoma vivax* diagnosed in cattle during outbreaks in central Brazil. Parasitol. 2020;147(2):1313-1319.
- Batista JS, Riet-Correa F, Barbosa RC, Guerra JL. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. Pes Vet Bras. 2006;26(1):31-37.

- Batista JS, Riet-Correa F, Teixeira MMG, Madruga CR, Simões SDV, Maia TF. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. Vet Parasitol. 2007;143(2):174-181.
- Batista JS, Bezerra FSB, Lira RA, Carvalho JRG, Neto AMR, Petri AA, Teixeira MMG. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. Pesq Vet Bras. 2008;28(1):63-69.
- Batista JS, Oliveira AF, Rodrigues CMF, Damasceno CAR, Oliveira IRS, Alves HM, Paiva ES, Brito PD, Medeiros JMF, Rodrigues AC, Teixeira MMG. Infection by *Trypanosoma vivax* in goats and sheep in the Brazilian semiarid region: From acute disease outbreak to chronic cryptic infection. Vet Parasitol. 2009;165(1-2):131-135.
- Batista JS, Freitas CIA, Da Silva JB, Cavalcante TV, De Paiva KAR, Lopes FC, Lira R. Clinical evaluation and reproductive indices of dairy cows naturally infected with *Trypanosoma vivax*. Semina: Ciênc Agrár. 2017;38(5):3031-3038.
- Bittner L, Krämer K, Wöckel A, Snedec T, Delling C, Böttcher D, Köller G, Baumgartner W, Richardt W, Starke A. Acta Vet Scand. 2021;63(1):2.
- Böse R, Friedhoff KT, Olbrich S, Büscher G, Domeyer I. Transmission of *Trypanosoma theileri* to cattle by Tabanidae. Parasitol Res. 1987;73:421-424.
- Böse R, Heister NC. Development of *Trypanosoma (M.) theileri* in Tabanids. J Euk Microbiol. 1993;40(6):788-792.
- Boulhosa, J. Informação científica. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1946. p.21-26. (Boletim Técnico).
- Braun U, Rogg E, Walser M, Nehrbass D, Guscetti F, Mathis A, Deplazes P. *Trypanosoma theileri* in the cerebrospinal fluid and brain of heifer with suppurative meningoencephalitis. Vet Rec. 2002;150(1):18-19.
- Browne AJ, Guerra CA, Alves RV, Costa VM, Wilson AL, Pigott DM, Hay SI, Lindsay SW, Golding N, Moyes CL. The contemporary distribution of *Trypanosoma cruzi* infection in humans, alternative hosts and vectors. Sci Data. 2017;4:170050.
- Bruce D, Hamerton AE, Bateman HR, Machie FP. The Development of Trypanosomes in Tsetse Flies. Proc R Soc. 1910;82:368-388.
- Brum I, Da Silva AS, Oliveira CB, Bastiani FT, Rosa LD, Monteiro SG. *Trypanosoma theileri* in cattle herd of Rio Grande do Sul State, Brazil. Comp Clin Pathol. 2012;21:197-199.
- Cadioli FA, Barnabé PA, Machado RZ, Teixeira MCA, André MR, Sampaio PH, Fidelis Junior OL, Teixeira MMG, Marques LC. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2012;21(2):118-124.

- Cadioli FA, Fidelis Junior OL, Sampaio PH, Dos Santos GN, André MG, Castilho KJGA, Machado RZ. Detection of *Trypanosoma vivax* using PCR and LAMP during aparasitemic periods. Vet Parasitol. 2015;214(1-2):174-177.
- Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of american trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. Rev Inst Med Trop. 1966;8(5):227-234.
- Carini A. Présence de trypanosomes chez bovidés à São-Paulo. São Paulo. 1911;4:191-192. (Bulletin de la Société de Pathologie Exotique).
- Carmichael J. Turning Sickness of cattle and *Trypanosoma theileri*. Parasitol. 1939;31(4):498-500.
- Carvalho AU, Abrão DC, Facury Filho EJ, Paes PRO, Ribeiro MFB. Occurrence of *Trypanosoma vivax* in Minas Gerais state, Brazil. Arq Bras Med Vet Zootec. 2008;60(3):769-771.
- Cecil A, Hoare FRS. The Loss of the Kinetoplast in Trypanosomes, with Special Reference to *Trypanosoma evansi*. J Protozool. 1954;1(1):28-33.
- CFSPH - The Center for Food Security & Public Health. African Animal Trypanosomiasis. 2018. Disponível em: https://www.cfsphe.iastate.edu/Factsheets/pdfs/trypanosomiasis_african.pdf.
- Chate SC, Dias RA, Amaku M, Ferreira F, Moraes GM, Costa Neto AA, Monteiro LARC, Lôbo JR, Figueiredo VCF, Gonçalves VSP, Ferreira Neto JS. Epidemiological situation of bovine brucellosis in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. Arq Bras Med Vet Zootec. 2009;61(1):46-55.
- Chávez-Larrea MA, Medina-Pozo ML, Cholota-Iza CE, Jumbo-Moreira JR, Saegerman C, Proaño-Pérez F, Ron-Román J, Reyna-Bello A. First report and molecular identification of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* outbreak in cattle population from Ecuador. Transbound Emerg Dis. 2020.
- Chiari E, Dias JCP, Lana M, Chiari CA. Hemocultures for the parasitological diagnosis of human chronic Chagas' Disease. Rev Soc Bras Med Trop. 1989;22(1):19-23.
- Cordoves CO, Fernandez C, Garcia AJ, Gonzalez BR. *Trypanosoma vivax*, Ziemann, 1905. Lista de transmisores mecanicos en Cuba. Rev Cub de Cien Vet. 1982;13:219-221.
- Correa FAK, Campos Neto O, Sogayar R. *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* Laveran, 1902. Reencontro em bovino no Estado de São Paulo, Brasil. Àrq Esc Vet. 1980;32(1):25-28.
- Cortez AP, Ventura RM, Rodrigues AC, Batista JS, Paiva F, Añez N, Machado RZ, Gibson WC, Teixeira MMG. The taxonomic and phylogenetic relationships of *Trypanosoma vivax* from South America and Africa. Parasitol. 2006;122(2):159-169.

- Cortez AP, Rodrigues AC, Garcia HA, Neves L, Batista JS, Bengaly Z, Paiva F, Teixeira MMG. Cathepsin L-like genes of *Trypanosoma vivax* from Africa and South America – characterization relationships and diagnostic implications. Mol Cell Probes. 2009;23(1):44-51.
- Costa VMM, Ribeiro MFB, Duarte ALL, Manguiera JM, Pessoa AF, Azevedo SS, Barros ATM, Riet-Correa F, Labruna MB. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. Rev Bras Parasitol Vet. 2013;22(2):207-213.
- Costa VC, Abreu APM, Thomé SMG, Massard CL, Santos HA, Ubiali DG, Brito MF. Parasitological and clinical-pathological findings in twelve outbreaks of acute trypanosomiasis in dairy cattle in Rio de Janeiro state, Brazil Vet Parasitol Reg Stud Reports. 2020;22:100466.
- Cortez AP, Rodrigues AC, Garcia HA, Neves L, Batista JS, Bengaly Z, Paiva F, Teixeira MMG. Cathepsin L-like genes of *Trypanosoma vivax* from Africa and South America – characterization, relationships and diagnostic implications. Mol Cell Probes. 2009;23(1):44-51.
- Cross RF, Smith CK, Redman DR. Observations on *Trypanosoma theileri* infection in cattle. Can J Comp Med. 1971;35(1):12-17.
- Cuglovici DA, Bartholomeu DC, Reis-Cunha JL, Carvalho AU, Ribeiro MFB. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state, Brazil. Vet Parasitol. 2010;169:320-326.
- Da Silva AS, Perez HAG, Costa MM, França RT, Gasperi D, Zanette RA, Amado JA, Lopes STA, Teixeira MMG, Monteiro SG. Horses naturally infected by *Trypanosoma vivax* in southern Brazil. Parasitol Res. 2011;108:23-30.
- Dávila AMR, Herrera HM, Schiebinger T, Souza SS, Traub-Cseko YM. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomosis in the Pantanal, Brazil. Vet Parasitol. 2003;117:1-13.
- Dikmans G, Manthei CA, Frank AH. Demonstration of *Trypanosoma theileri* in the stomach of an aborted bovine fetus. Cornell Vet. 1957; 47(3):344-353.
- Doherty ML, Windle H, Voorheis HP, Larkin H, Casey M, Clery D, Murray M. Clinical disease associated with *Trypanosoma theileri* infection in a calf in Ireland. Vet Rec. 1993;132(26):653-656.
- Dyonisio GHS, Batista HR, Da Silva RE, Azevedo RCF, Costa JOJ, Manhães IBO, Tonhosolo R, Gennari SM, Minervino AHH, Marcili A. Molecular diagnosis and prevalence of *Trypanosoma vivax* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) in buffaloes and ectoparasites in the Brazilian Amazon region. J Med Entomol. 2020;58(1):403-407.
- Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. Immunochemistry. 1971;8(9):871-974.

- Favero M, Pinheiro SR, Vasconcellos AS, Moraes ZM, Ferreira F, Ferreira Neto JS. Leptospirose bovina – variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. *Arq Inst Biol.* 2001;68(2):29-35.
- Fávero JF, Da Silva AS, Biazus AH, Volpato A. *Trypanosoma vivax* infection in goat in West of Santa Catarina state, Brazil. *Comp Clin Pathol.* 2015;25:497-499.
- Feitosa JAB, Guerra RMSNC, Santos HP, Abreu-Silva AL. Registro e morfometria de *Trypanosoma vivax* em esfregaço sanguíneo de bovino no município de Itapecuru-Mirim, Maranhão. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2004;1:232.
- Ferenc SA, Stopinski V, Courtney CH. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* and its use in a seroepidemiological survey of the Eastern Caribbean Basin. *Int J Parasitol.* 1990;20(1):51056.
- Franco JR, Cecchi G, Priotto G, Paone M, Diarra A, Grout L, Mattioli RC, Argaw D. Monitoring the elimination of human African trypanosomiasis: Update to 2014. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(5):e0005585.
- Frange RCC, Bittar ER, Bittar JFF, Campos MTG. Tripanossomíase em vacas da microttegião de Uberaba – MG: estudo soroepidemiológico. In: VII ENCONTRO DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO, II CONGRESSO INTERNACIONAL TRABALHO DOCENTE E PROCESSOS EDUCATIVOS, 1, 2013. Uberaba. *Revista Encontro de Pesquisa em Educação.* 2013;1(1):3.
- Galiza GJN, Garcia HÁ, Assis ACO, Oliveira DM, Pimentel LA, Dantas AFM, Simões SVD, Teixeira MMG, Riet-Correa F. High mortality and lesions of the central nervous system in Trypanosomosis by *Trypanosoma vivax* in Brazilian hair sheep. *Vet Parasitol.* 2011;182:359-363.
- Garcia, H.A.; Rodrigues, A.C.; Rodrigues C.M.F.; Bengaly, Z.; Minervino, A.H.H.; Riet-Correa, F.; Machado, R.Z.; Paiva, F.; Batista, J.S.; Neves, L.; Hamilton, P.B.; Teixeira, M.M.G. Microsatellite analysis supports clonal propagation and reduced divergence of *Trypanosoma vivax* from asymptomatic to fatally infected livestock in South America compared to West Africa. *Parasit Vectors.* 2014;7:210.
- Garcia HA, Ramírez OJ, Rodrigues CMF, Sánchez RG, Bethencourt AM, Pérez GDM, Minervino AHH, Rodrigues AC, Teixeira MMG. *Trypanosoma vivax* in water buffalo of the Venezuelan Llanos: An unusual outbreak of wasting disease in an endemic area of typically asymptomatic infections. *Vet Parasitol.* 2016;230:49-55.
- Garcia HA, Rodrigues CMF, Pivat IHV, Fuzato ACR, Camargo EP, Minervino AHH, Teixeira MMG. High *Trypanosoma vivax* infection rates in water buffalo and cattle in the Brazilian Lower Amazon. *Parasitol Int.* 2020;79:102162.
- Gardiner, P.R.; Assoku, R.K.G.; Whitelaw, D.D.; Murray, M. Haemorrhagic Lesions Resulting from *Trypanosoma vivax* Infection in Ayrshire Cattle. *Vet Parasitol.* 1989;31:187-197.

- Germano PHV, Edler GEC, Da Silva AA, Lopes LO. Prevalência de *Trypanosoma vivax* em bovinos no município de Patos de Minas/MG. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. 15, 2017. Foz do Iguaçu. Rev Acad Ciênc Anim. 2017;15(2):S433-434
- Geysen, D.; Delespaux, V.; Geerts, S. PCR-RFLP using Ssu-rDNA amplification as a easy method for species-specific diagnosis of *Trypanosoma* species in cattle. Vet. Parasitol. 2003;110(3-4):171-180.
- Guedes Junior DS, Araújo FR, Silva FJM, Rangel CP, Neto JDB, Fonseca, AH. 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. Brazil J Vet Parasitol. 2008;17(2):105-109.
- Guerra RMSNC, Júnior ABF, Santos HP, Abreu-Silva AL, Santos ACG. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. Cienc Rural. 2008;38(3):833-835.
- Guerra NR, Monteiro MFM, Sandes HMM, Da Cruz NLN, Ramos CAN, Santana VLA, De Souza MMA, Alves LC. Detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos através do teste de Imunofluorescência indireta. Pes Vet Bras. 2013;33(12):1423-1426.
- Hajihassani A, Maroufi S, Esmaeilnejad B, Khorram H, Tavassoli M, Dalir-Naghadeh B, Samiei A. Hemolytic anemia associated with *Trypanosoma theileri* in a cow from Kurdistan province, West of Iran. Vet Res Forum. 2020;11(2):191-193.
- Hamilton PB, Adams ER, Malele II, Gibson WC. A novel, high-throughput technique for species identification reveals a new species of tsetse-transmitted trypanosome related to the *Trypanosoma brucei* subgenus, Trypanosozoon. Infect Genet Evol. 2008;8(1):26-33.
- Herbert IV. *Trypanosoma theileri*, Laveran, 1902: A cosmopolitan parasite of cattle. Vet Bull. 1964;34(10):563-570.
- Herrera HM, Dávila AMR, Norek A, Abreu UG, Souza SS, D'Andrea OS, Jansen AM. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. Vet Parasitol. 2004;125(2-3):263-275.
- Hoare, C.A. Morphological and Taxonomic Studies on Mammalian Trypanosomes. X. Revision of the Systematics. J Protozool. 1964; 11(2): 200-207.
- Hoare, C.A. Vampire bats as vectors and hosts of equine and bovine trypanosomes. Act Trop. 1965;22(3):204-216.
- Hoare, C.A. The Trypanosomes of Mammals. J Small Anim Pract. 1972;13:671-672.
- Jaimes-Dueñez J, Triana-Chávez O, Mejia-Jaramillo AM. Spatial-temporal and phylogeographic characterization of *Trypanosoma* spp. in cattle (*Bos taurus*)

and buffaloes (*Bubalus bubalis*) reveals transmission dynamics of these parasites in Colombia. *Vet Parasitol.* 2018;249:30-42.

- Jaimes-Dueñez J, Cantillo-Barraza O, Triana-Chávez O, Mejia-Jaramillo AM. Molecular surveillance reveals bats from eastern Colombia infected with *Trypanosoma theileri* and *Trypanosoma wauwau*-like parasites. *Prev Vet Med.* 2020;184:105159.
- Jackson AP, Goyard S, Xia D, Foth BJ, Sanders M, Wastling JM, Minoprio P, Berriman M. Global gene expression profiling through the complete life cycle of *Trypanosoma vivax*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9(8):e0003975.
- Jackson AP, Otto TD, Aslett A, Armstrong SD, Bringaud F, Schlacht A, Hartley C, Sanders M, Wastling JM, Dacks JB, Acosta-Serrano A, Field MC, Ginger ML, Berriman M. Kinetoplastid phylogenomics reveals the evolutionary innovations associated with the origins of parasitism. *Curr Biol.* 2016;26(2):161-172.
- Kaliner G. Extravascular occurrence of *T. theileri* in the cerebellum of a zebu cow associated with meningoencephalomyelitis. *Berl Muench Tieraerztl Wochenschr.* 1972;85:251-252.
- Koether K, Albuquerque AL, Zakia LS, Rodrigues FP, Takahira RK, Munhoz AK, Oliveira-Filho JP, Borges AS. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos leiteiros no estado de São Paulo. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2017, Foz do Iguaçu. *Rev Acad Ciênc Anim.* 2017;15(2):S565-566.
- Krinsky WL, Pechuman LL. Trypanosomes in horse flies and deer flies in central New York State. *J Parasitol.* 1975;61(1):12-16.
- Lanham SM, Miles MA, Shaw JJ, Lainson R. *Trypanosoma vivax* in water buffalo (*Bubalus bubalis*) of the Amazon basin and the diagnosis of subpatent infection by anion exchange separation. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1981;75(3):471-472.
- Linhares GFC, Filho FCD, Fernandes PR, Duarte SC. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). *Ci Anim Bras.* 2006;7(4):455-460.
- Lopes STP, Prado BS, Martins GHC, Beserra HEA, Filho MACS, Evangelista LSM, Cardoso JFS, Mineiro ALBB, Souza JAT. *Trypanosoma vivax* in Dairy Cattle. *Acta Sci Vet.* 2018;46(1):287.
- Madruga CR, Aycardi E, Kessler RH, Schenk MAM, Figueiredo GR, Curvo JBE. Níveis de anticorpos anti-*Babesia bigemina* e *Babesia bovis*, em bezerros da raça nelore, ibagé e cruzamentos de nelore. *Pesq Agropec Bras.* 1984;19(9):1163-1168.
- Madruga CR, Berne MEA, Kessler RH, Gomes RFC, Lima JG, Schenk MAM. Diagnóstico de tristeza parasitária bovina no Estado de Mato Grosso do Sul: inquérito de opinião. Fundação Cargill, 1986. 40p. il. (EMBRAPA-CNPGC. Circular Técnica, 18).

- Madruga CR, Araújo FR, Cavalcante-Goes G, Martins C, Pfeifer IN, Ribeiro LR, Kessler RH, Soares CO, Miguita M, Melo EPS, Almeida RFC, Lima Jr MMSC. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. Mem Inst Oswaldo Cruz; 2006;101(7):801-807.
- Majekodunmi AO, Fajinmi A, Dongkum C, Picozzi K, Macleod E, Thrusfield MV, Shaw APM, Welburn SC. Social factors affecting seasonal variation in bovine trypanosomiasis on the Jos Plateau, Nigeria. Parasit Vectors. 2013;6(1):293.
- Martins CF, Madruga CR, Koller WW, Araújo FR, Soares CO, Kessler RH, Melo ESP, Rios LR, Almeida RCF, Lima JR MSC, Barros ATM, Marques LC. *Trypanosoma vivax* infection dynamics in a cattle herd maintained in a transition area between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brazil. Pesq Vet Bras. 2008;28(1):51-56.
- Masake RA. The pathogenesis of infection with *Trypanosoma vivax* in goats and cattle. Vet Rec. 1980;107(24):551-557.
- Meléndez RD, Forlano M, Figueroa W. Perinatal Infection with *Trypanosoma vivax* in a Calf in Venezuela. J Parasitol. 1993;79(2):293-294.
- Mello VVC, Ramos IAS, Herrera HM, Mendes NS, Calchi AC, Campos JBV, Macedo GC, Alves JVA, Machado RZ, André MR. Occurrence and genetic diversity of hemoplasmas in beef cattle from the Brazilian Pantanal, an endemic area for bovine trypanosomiasis in South America. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2019;66:101337.
- Melo SA, Barros ACE, Costa FB, Neta AVC, Guerra RMNC, Abreu-Silva AL. Bovine Trypanosomiasis as an Emerging Disease in Maranhão State-Brazil. Vector Borne Zoonotic Dis. 2011;11(7):853-856.
- Meneses RM. Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011: Soroprevalência e fatores de risco. 2016. 61. Tese. Escola Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2016.
- Mitchell FE, Long IR. Bovine foetal death due to *Trypanosma theileri* infection. Proceedings of 3rd Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, v. 23, p. 67–72, 1980.
- Monzón CM, Mancebo AO, Giménez JN, Russo AM. Primera Descripción de *Trypanosoma vivax* em Argentina. Vet Arg. 2008;25(247):492-498.
- Moreira MF, Santos MP, Montes PC, Ribas JR. Primeiro relato de surto por *Trypanosoma vivax* em bovinos no estado da Bahia, Brasil. In: 2º ENCONTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA VETERINÁRIA, 2015, São Paulo. Biológico. 2015;77(1):11-64.
- Murakami VY, Alves RM, Nascimento MR, Barros JC, Carvalho LL, Da Costa ML, Oliveira ES, Borges DG, Alves AG, Dias FGG, Pereira LF. *Trypanosoma vivax*:

relato em bovino. In: ANAIS-VIII CONGRESSO DA SOCIEDADE PAULISTA DE PARASITOLOGIA. 2016;15(6).

- Murray M, Murray PK, McIntyre WIM. An improved parasitological technique for the diagnosis of african trypanosomiasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1977;71(4):325-326.
- Niak, A. The incidence of *Trypanosoma theileri* among cattle in Iran. Trop Anim Hlth Prod. 1978;10:26-27.
- Nnko HJ, Ngonyoka A, Salekwa L, Estes AB, Hudson PJ, Gwakisa PS, Cattadori IM. Seasonal variation os tsetse fly species abundance and prevalence of trypanosomes in the Maasai Steppe, Tanzania. J Vector Ecol. 2017;42(1):24-33.
- Nunes VLB, Da Silva RP, Takeda GKF, Espindola MA, Cavalheiros MEM. Ocorrência de tripanossomos em bovinos na região de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. Nota Prévia. Rev Fac Med Vet Zootec. 1983;20(2):183.
- Ogassawara S, Benassi S, D'Angelino JL, Araujo WP, Gouveia AC. Observations on *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* Laveran, 1902 in bovine in the State of Sao Paulo. Rev Microbiol. 1981;12(1):17-21.
- Ogwu D, Njoku CO, Osori DIK. Effects of experimental *Trypanosoma vivax* infection on first, second, and third trimester pregnancy in heifers. Theriogenology. 1986;25(3):383-398.
- Oliveira TMV, Bezerra BMO, Gadelha RA, Azevedo JLM, Leite AKRM. Trypanosomiasis goats in naturally infected in the state of Ceará: Case report. Rev Form Interd. 2012;1(1):34-36.
- Ono MSB, Souto PC, Cruz JALO, Guerra NR, Guimarães JA, Dantas AC, Alves LC, Rizzo H. Surto de *Trypanosoma vivax* em rebanhos bovinos na Zona da Mata do estado de Pernambuco. Medicina Veterinária (UFRPE). 2017;11(2)96-101.
- Osório ALAR, Madruga CR, Desquesnes M, Soares CO, Ribeiro LRR, Da Costa SCG. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World – A Review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2008;103(1):1-13.
- Otte MJ, Abuabara JY. Transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. Acta Trop. 1991;49(1):73-76.
- Pacheco TA, Marcili A, Da Costa AP, Witter R, Melo ALT, Boas RV, Chitarra CS, Dutra V, Nakazato L, Pacheco RC. Genetic diversity and molecular survey of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* in cattle in Brazil's western Amazon region. Braz J Vet Parasitol. 2018;27(4):579-583.
- Paiva F, De Lemos RAA, Oshiro ET, Salvador SC, Nakazato L. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos no estado de Mato Grosso do Sul. Braz. J. Vet. Parasitol. 1997;6(2):349.

- Paiva F, De Lemos RAA, Nakazato L, Mori AE, Brum KB, Bernardo KC. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do estado do Mato do Mato Grosso do Sul, Brasil – I – Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. *Braz J Vet Parasitol.* 2000a;9(2):135-141.
- Paiva F, De Lemos RAA, Nakazato L, Brum KB, Bernardo KC, Madruga CR, Schenk MA. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: II – Inoculação experimental. *Braz J Vet Parasitol.* 2000b;9(2):143-148.
- Pellegrin AO, Sereno JR, Leite RC, Figueiredo HCP. Doenças da reprodução em bovinos no Pantanal: ocorrência de animais soropositivos para os vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina, diarreia bovina à vírus e língua azul. Corumbá: Embrapa Pantanal, 1997;1-7 (Comunicado Técnico, 20).
- Pereira LJ, Da Abreu ACVV. Ocorrência de tripanosomas em bovinos e ovinos na região amazônica. *Pesq Agropec Bras.* 1978;13(3):17-21.
- Pereira HD, Simões SVD, Souza FAL, Silveira JAG, Ribeiro MFB, Cadioli FA, Sampaio PH. *Pesq Vet Bras.* 2018;38(5):896-901.
- Pimentel DS, Ramos CAN, Ramos RAN, Araújo FR, Borba ML, Faustino MAG, Alves LC. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. *Vet Parasitol.* 2012;185:286-289.
- Ramírez JD, Tapia-Calle G, Muñoz-Cruz G, Poveda C, Rendón LM, Hincapié E, Guhl F. Trypanosome species in neotropical bats: biological, evolutionary and epidemiological implications. *Infect Genet Evol.* 2014;22:250-256.
- Ramos IAS, De Mello VVC, Mendes NS, Zanatto DCS, Campos JBV, Alves JVA, Macedo GC, Herrera HM, Labruna MB, Pereira GT, Machado RZ, André MR. Serological occurrence for tick-borne agents in beef cattle in the Brazilian Pantanal. *Braz J Vet Parasitol.* 2020;29(1): e014919.
- Reis MO, Souza FR, Albuquerque AS, Monteiro F, Oliveira LFS, Raymundo DL, Wouters F, Wouters ATB, Peconick, AP, Varaschin MS. Epizootic Infection by *Trypanosoma vivax* in Cattle from the State of Minas Gerais, Brazil. *Korean J Parasitol.* 2019;57(2):191-195.
- Riet-Correa F, Tabosa IM, Azevedo EO, Medeiros RMT, Simões SVD, Dantas AFM, Alves CJ, Nobre VMT, Athayde ACR, Gomes AA, Lima EF. Doenças de ruminantes e equinos no Semi-Árido da Paraíba. *Semi-Árido em Foco;* 2003;1:49-52.
- Rodrigues AC, Campaner M, Takata CSA, Dell' Porto A, Milder RV, Takeda GF, Teixeira MMG. Brazilian isolates of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: diagnosis and differentiation of isolates from cattle and water buffalo based on biological characteristics and randomly amplified DNA sequences. *Vet Parasitol.* 2003;116:185-207.

- Rodrigues AC, Paiva F, Campaner M, Stevens JR, Noyes HA, Teixeira MMG. Phylogeny of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* and related trypanosomes reveals lineages of isolates associated with artiodactyl hosts diverging on SSU and ITS ribosomal sequences. *Parasitology*. 2006;132(2):215-224.
- Rodrigues AC, Garcia HA, Batista JS, Minervino AHH, Gões-Cavalcante G, Da Silva FM, Ferreira RC, Campaner M, Paiva F, Teixeira MMG. Characterization of spliced leader genes of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: phylogeographical analysis of Brazilian isolates from cattle supports spatial clustering of genotypes and parity with ribosomal markers. *Parasitology*. 2010;137(1):111-122.
- Rodrigues CMF, Batista JS, Lima JM, Freitas FJC, Barros IO, Garcia HA, Rodrigues AC, Camargo EP, Teixeira MMG. Field and experimental symptomless infections support wandering donkeys as healthy carriers of *Trypanosoma vivax* in the Brazilian Semiarid, a region of outbreaks of high mortality in cattle and sheep. *Parasit. Vectors*. 2015;8(564):1-11.
- Ruiz-Martinez, C. Les trypanosomiasés au Venezuela. Progrès obtenus dans la lutte et la prophylaxie de la maladie. *Bull Off Int Epizoot*. 1971;76:275-89.
- Salas RZ, Zuluaga EAC, Vélez JR, Chávez OT, García VHP, Osorio LAR, Rosales RB, Echeverry DP. Tripanosomiasis bovina em ganadería lechera de trópico alto: primer informe de *Haematobia irritans* como principal vector de *T. vivax* y *T. evansi* em Colombia. *Rev Med Vet*. 2017;33:21-34.
- Santos VR. Ocorrência de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) em bovinos procedentes do estado de Alagoas, Brasil. 2013. 25. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2013.
- Schmith R, Moreira W, Vassoler JM, Vassoler JC, Souza JEGB, De Faria, AGA, Almeida L, Teixeira MC, Marcolongo-Pereira C. *Trypanosoma vivax* Epizootic Infection in Cattle from Espírito Santo State, Brazil. *Adv Anim Vet Sci*. 2020;8(6):629-632.
- Serra Freire NM, Silva NM, Muniz JA. Prevalência de *Trypanosoma vivax* em *Bubalus bubalis* no Município de Bélem, Estados do Pará. *Atas da Sociedade de Biologia*. 1981a;22:35-36.
- Serra Freire NM. Oiapoque – outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. *Rev Bras Med Vet*. 1981b;4(4):30-31.
- Shaw JJ, Lainson R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. *Ann Trop Med Parasitol*. 1972;66(1):25-32.
- Silbermayr K, Li F, Soudré A, Müller, Sölkner J. A novel qPCR assay for the detection of African animal trypanosomosis in trypanotolerant and trypanosusceptible cattle breeds. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(8): e2345.
- Silva RAMS, Da Silva JA, Schneider RC, Freitas J, Mesquita D, Mesquita T, Ramirez L, Dávila AMR, Pereira MEB. Outbreak of Trypanosomiasis Due to

Trypanosoma vivax (Ziemann, 1905) in Bovines of the Pantanal, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996; 91(5):561-562.

- Silva RAMS, Ramirez L, Souza SS, Ortiz AG, Pereira SR, Dávila AMR. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. Vet. Parasitol. 1999;85(1):87-93.
- Silva AS, Costa MM, Polenz MF, Polenz CH, Teixeira MMG, Lopes STA, Monteiro SG. First report of *Trypanosoma vivax* in bovines in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Cienc Rural; 2009;39(8):2550-2554.
- Silveira JM, De Melo HJH, Paiva F, Ribeiro OC. *Trypanosoma* em bovinos no estado de Mato Grosso do Sul. Pesq Agropec Bras. 1984;19(11):1433-1436.
- Snak A, Lara AA, Garcia FG, Pieri EM, Da Silveira JAG, Osaki SC. Prevalence study on *Trypanosoma vivax* in dairy cattle in the Western region on the State of Paraná, Brazil. Semina: Ciênc. Agrár. 2018;39(1):425-430.
- Songa EB, Paindavoine P, Wittouck E, Viseshaku N, Muldermans S, Steinert M, Hamers R. Evidence for kinetoplast and nuclear DNA homogeneity in *Trypanosoma evansi* isolates. Mol Biochem Parasitol. 1990;43(2):167-179.
- Sood NK, Singla LD, Singh RS, Uppal SK. Association of *Trypanosoma theileri* with peritonitis in a pregnant crossbred cow: a case report. Vet Med-Czech. 2011; 56(2):82-84.
- Splitter EJ, Soulsby E. Isolation and continuous cultivation of *Trypanosoma theileri* in media containing tissue culture fluids. Exp. Parasitol. 1967;21(2):137-148.
- Swaroop S. Index of endemicity. Bull Wld Hlth Org. 1957;16(6):1083-1101.
- Turner CMR, Vickerman K. Trypanosomiasis, African. Encyclopedia of Immunology. 1998;2420-2423.
- Ventura RM, Takata CSA, Silva RAMS, Nunes VL, Takeda GF, Teixeira MMG. Molecular and morphological studies of Brazilian *Trypanosoma evansi* stocks: the total absence of kDNA in trypanosomes from both laboratory stocks and naturally infected domestic and wild mammals. J Parasitol. 2000; 86(6):1289-1298.
- Ventura RM, Paiva F, Silva RAMS, Takeda GF, Buck GA, Teixeira MMG. *Trypanosoma vivax*: characterization of the Spliced-Leader Gene¹ of a Brazilian Stock and Species-Specific Detection by PCR Amplification of an Intergenic Spacer Sequence. Exp. Parasitol. 2001;99(1):37-38.
- Vieira OL, De Macedo LO, Santos MAB, Silva JABA, De Mendonça CL, Faustino MAG, Ramos CAN, Alves LC, Ramos RAN, De Carvalho GA. Detection and molecular characterization of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* in dairy cattle in the state of Sergipe. Northeastern Brazil. Braz J Vet Parasitol. 2017;26(4):516-520.
- Villa A, Gutierrez C, Gracia E, Moreno B, Chacón G, Sanz PV, Bünscher P, Touratier L. Presence of *Trypanosoma theileri* in Spanish Cattle. Ann N Y Acad Sci. 2008;1159:352-354.

- Votýpka J, D'ávila-Levy CM, Grellier P, Maslov DA, Lukes J, Yurchenko V. New Approaches to Systematics of Trypanosomatidae: Criteria for Taxonomic (Re)description. Trends Parasitol. 2015;31(10):460-469.
- Wells EA, Betancourt A, Ramirez LE. Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the New World. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1977;71(5):448-449.
- Woo PTK. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. Acta Trop. 1970;27:384-386.
- Zanatto DCS, Gatto IRH, Labruna MB, Jusi MMG, Samara SI, Machado RZ, André MR. *Coxiella burnetii* associated with BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus), BoHV (Bovine Herpesvirus), *Leptospira* spp., *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma vivax* in reproductive disorders in cattle. Braz J Vet Parasitol. 2019; 28(2):245-247.

4. ARTIGO CIENTÍFICO

Trypanosoma spp. em bovinos no Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil

Resumo

Introdução: O real impacto das infecções por *Trypanosoma* spp. ao longo do tempo em bovinos, é desconhecido no Brasil. O objetivo deste trabalho foi estimar as prevalências parasitológica, sorológica e molecular de *Trypanosoma* spp. em bovinos no Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil; transcorridos mais de duas décadas de sua introdução.

Métodos: Foram amostrados 312 bovinos, de ambos os sexos, predominantemente da raça nelore em quatro propriedades rurais na região do Pantanal, do estado de Mato Grosso do Sul, adotando o método de amostragem aleatória estratificada (adultos e jovens) e em clusters (propriedades), para diagnósticos de *Trypanosoma* spp. utilizando as técnicas de microhematócrito e da PCR-FFLB (Fluorescent Fragment Length Barcoding). Nas mesmas propriedades, outras 170 amostras de soro bovino adulto foram coletadas para o método de Ensaio Imunoenzimático (ELISA).

Resultados: Pela técnica do microhematócrito, 14,42% (45/312) dos bovinos eram portadores de *Trypanosoma* spp.; considerando a intensidade parasitária, 37 foram classificadas com + (1-5 tripomastigotas), 7 com ++ (6-10) e 1 com ++++ (>20). O volume globular (VG) em todos os animais (24 a 46%) estava entre os padrões de normalidade para a espécie e categoria animal (21-39%). Pelos resultados da PCR-FFLB, 34,61% (108/312) dos animais eram portadores de *T. theileri* e 1,6% (5/312) com *T. vivax*. Entre os animais amostrados, apenas dois apresentaram coinfeção para ambas as espécies. Pelo ELISA, 50,59% (86/170) das amostras foram reagentes ao antígeno recombinante de *T. vivax* empregado.

Conclusão: As espécies encontradas pelo PCR-FFLB foram *T. theileri* e *T. vivax* em bovinos assintomáticos. A situação epidemiológica de *T. theileri* não foi possível detalhar com segurança, pelos mesmos critérios adotados para a outra espécie, mas podemos concluir que essa espécie é a mais prevalente em bovinos no Pantanal. A espécie *T. vivax*, possui baixa prevalência, inclusive molecular, associada a baixa intensidade parasitária, com elevado número de indivíduos reagentes sorologicamente, assintomáticos. Como nas condições pantaneiras, onde os vetores para essa espécie são apenas mecânicos, a comunicabilidade é

baixa e a transmissão vetorial é reduzida, pode-se então concluir, que a espécie *T. vivax* está em equilíbrio endêmico com os bovinos do Pantanal Sul-mato-grossense.

Palavras-chave: Ruminantes, Diagnóstico, Epidemiologia, Tripanosomíases.

Introdução

Os tripanosomatídeos (Euglenozoa: Kinetoplastida), são parasitas obrigatórios que podem infectar uma diversidade de espécies animais vertebrados e invertebrados; apresentam ampla distribuição geográfica, com maior ocorrência em regiões com clima tropical e subtropical, sendo favorecida pela abundância de vetores hematófagos (HOARE, 1972; BROWNE et al., 2017; FRANCO et al., 2017). No Brasil, o primeiro relato de infecção em bovinos por *Trypanosoma theileri* foi realizado Carini (1911) em São Paulo e de *T. vivax* por Boulhosa (1946) no estado do Pará.

A *Trypanosoma vivax*, é classificada ao subgênero *Dutonella*, seção salivaria, é um parasita originário do continente Africano que se adaptou aos vetores presentes nas Américas, tendo importância veterinária, pois pode acometer principalmente animais domésticos e silvestres ungulados (HOARE, 1972). E a *T. theileri* é classificada ao subgênero *Megatrypanum*, seção Stercoraria (HOARE, 1964), acometendo preferencialmente animais biungulados.

Na América do Sul há registros de *T. vivax* na Colômbia, Venezuela, Guiana Francesa, Bolívia, Paraguai, Brasil, Argentina e Equador; parasitando bovinos, búfalos, ovinos e equinos (SHAW & LAINSON, 1972; MONZÓN et al., 2008; GARCIA et al., 2014; CHÁVEZ-LARREA et al., 2020); nessas áreas as espécies de *Trypanosoma* spp. mais relatadas em ruminantes são *Trypanosoma vivax* e *T. theileri* (NUNES et al., 1983; SILVEIRA et al., 1984; PAIVA et al., 1997; MADRUGA et al., 2006; BRUM et al., 2012; PACHECO et al., 2018; ZANATTO et al., 2019).

Os primeiros relatos de *T. vivax* no Brasil ocorreram na região Norte e Centro-Oeste nos biomas Amazônia, Cerrado (SHAW & LAINSON, 1972; PEREIRA & DE ABREU, 1978; LANHAM et al., 1981; SERRA FREIRE et al., 1981a; SERRA FREIRE, 1981b; LINHARES et al., 2006) e no Pantanal (SILVA et al., 1996; PAIVA et al., 1997; SILVA et al., 1999;).

A transmissão de *T. vivax* na América do Sul, ocorre mecanicamente pela picada dos tabanídeos, moscas hematófagas e de forma iatrogênica (HOARE, 1972; FOIL et al. 1987; RAYMOND & ROUSSEAU, 1987; OTTE & ABUABARA, 1991; GIBSON, 2005; BASTOS et al., 2017). Fatos recentes trouxeram destaques a essa forma de transmissão, quando da proliferação abundante de populações de *Stomoxys calcitrans* e simultaneamente a casos agudos de tripanossomíase causados por *T. vivax* em áreas vizinhas a usinas de processamento de cana para produção de álcool ou açúcar, em cujos rejeitos as larvas das moscas encontram um substrato adequado para o desenvolvimento (CADIOLI et al., 2012). A ausência do vetor biológico resultou em baixa diversidade genética observada nos isolados no continente americano (VENTURA et al., 2000; GARCIA et al., 2014). Para a espécie *T. theileri*, a transmissão ocorre de forma estercorária pelo vetor biológico, os tabanídeos (HOARE, 1972; BÖSE et al., 1987; BÖSE & HEISTER, 1993), sendo observada maior diversidade genética entre os isolados dessa espécie no Brasil (RODRIGUES et al., 2003; RODRIGUES et al., 2006; RODRIGUES et al., 2010; PACHECO et al., 2018).

A infecção por *T. vivax* é mais frequente em bovinos na forma subclínica, porém são relatados sinais clínicos, não específicos (BÜSCHER, 2014), mas importantes como: emaciação, febre no início da infecção, palidez de mucosas, linfonodos aumentados, cansaço, depressão, anorexia, decúbito lateral e até morte, as alterações hematológicas observadas e mais significativas são anemia e linfocitose, com leucopenia ou leucocitose, à necropsia são observadas palidez da carcaça, linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia com acentuação da polpa branca, acúmulo de líquido amarelo citrino, nas cavidades peritoneal e pericárdica, pela histopatologia são registradas linfadenite eosinofílica, miocardite com infiltrados multifocais por células mononucleares no interstício e pericardite, ou miocardite não supurativa multifocal perivascular e glomerulonefrite não supurativa multifocal subaguda em animais experimentalmente infectados por esse parasita. (MASAKE, 1980; PAIVA et al., 2000b; BATISTA et al., 2006). Em contraste, a *T. theileri*, possui escassos relatos clínicos e geralmente é considerada agente oportunista em casos de coinfeção com outros patógenos (SILVEIRA et al., 1984; BRUM et al., 2012; PACHECO et al., 2018; AMATO et al., 2019).

É possível diferenciar essas espécies pelas suas morfologias, pois são facilmente distinguíveis; a *T. vivax* é pequena (18,10-22,77µm de comprimento) e possui cinetoplasto terminal conspícuo e sua membrana ondulante é pouco desenvolvida (HOARE, 1972; SHAW & LAINSON, 1972; GARDINER, 1989) e a *T. theileri* é maior, com o dobro do tamanho das demais espécies que ocorrem em ruminantes (30-70µm de comprimento), além de apresentar membrana ondulante bastante conspícua e expandida (HOARE, 1964, HOARE, 1972).

A dispersão da *T. vivax* nas diversas regiões do país, observadas após a década de noventa do século passado, apresenta distribuição na maioria dos estados e biomas do Brasil (Tabela 1). O que chama a atenção é o conceito ou percepção, em grande número de relatos, que o agente seria extremamente patogênico e até mortal (SILVA et al. 1996, DÁVILA et al., 2003; BATISTA et al., 2006; ABRÃO et al., 2009; CADIOLI et al., 2012; KOETHER, 2017). No entanto, alguns aspectos importantes devem ser destacados; o primeiro é que, os relatos quando dos registros iniciais chegam a reportar alta morbidade (SERRA FREIRE et al., 1981a; BATISTA et al., 2007; CADIOLI et al., 2012), porém os sintomas são genéricos e não apenas atribuíveis a *T. vivax*, visto que inúmeras outras etiopatogenias estão presentes nos rebanhos – o que é citado em alguns artigos de forma clara (PEREIRA & ABREU, 1978; PAIVA et al., 1997; REIS et al., 2019; ZANATTO et al., 2019). Temos que considerar as situações cujo agravamento dos sintomas pode estar associado a coinfeções com outros patógenos ou causas de manejo. Outro aspecto é que as ocorrências são predominantes em sistemas de exploração leiteira, onde os animais nem sempre tem um manejo sanitário e mesmo nutricional adequado e ainda, aqueles em lactação, em algumas propriedades são expostos a injeções diárias com ocitocina e, pior, com o uso de agulhas e seringas de forma simultânea e coletiva, o que seguramente transfere o agente de animal a animal (BASTOS et al., 2013; BASTOS et al., 2017; ONO et al., 2017; ANDRADE NETO et al., 2019; CASTILHO NETO et al. 2021).

Tabela 1. Registros de ocorrências de *T. vivax* em bovinos nas diversas regiões do Brasil, métodos de diagnósticos utilizados e as respectivas referências.

Região	Parasitológico		Sorológico	Molecular	Referências
Norte	PA	31/100 (31%)	NR	NR	Serra Freire et al., 1981a
		NR	324/1056 (30.68%)	NR	Madruça et al., 2006
		NR	229/246 (93.08%)	NR	Guedes Junior et al., 2008
		NR	NR	55/150 (36.66%)	GARCIA et al., 2020
		NR	NR	12/621 (1.93%)	Dyonisio et al., 2020
	AP	8/32 (25%)	NR	NR	Serra Freire et al., 1981b
	TO	3/9 (33.33%)	NR	NR	Linhares et al., 2006
Centro-Oeste	MT	10/29 (34.48%)	NR	NR	Silva et al., 1996
		3/12 (25%)	NR	NR	Bastos et al., 2013
	MS	7/23 (30.43%)	NR	NR	Paiva et al., 1997
		2/489 (0.4%)	NR	212/489 (43.35%)	Dávila et al., 2003
		NR	1405/2508 (56.02%)	NR	Madruça et al., 2006
		NR	359/400 (89.75%)	NR	Mello et al., 2019
		NR	7/10 (70%)	NR	Zanatto et al., 2019
		NR	364/400 (91%)	NR	Ramos et al., 2020
		NR	11/20 (55%)	NR	Zanatto et al., 2019
		GO	358/4049 (8.84%)	NR	NR
Nordeste	MA	1/31 (3.22%)	NR	NR	Guerra et al., 2008
		6/559 (1.07%)	NR	14/559 (2.5%)	Melo et al., 2011
	PB	2/183 (1.09%)	151/183 (82.51%)	NR	Pereira et al., 2018
		75/141 (53.19%) - 2002	34/45 (75.5 %) – 2002	NR	Batista et al., 2007
		NR	85/89 (95.5%) – 2003	NR	Batista et al., 2007
		NR	2/85 (2.35%) – 2004	NR	Batista et al., 2007
		21/56 (3.75%)	NR	NR	Batista et al., 2008
	100/425 (23.52%)	NR	NR	Batista et al., 2009	

Tabela 1. (Continuação) Registros de ocorrências de *T. vivax* em bovinos nas diversas regiões do Brasil, métodos de diagnósticos utilizados e as respectivas referências.

Região	Parasitológico	Sorológico	Molecular	Referências
Nordeste	PB 24/36 (66.66%)	NR	60/155 (38.70%)	Galiza et al., 2011
	2/22 (9.09%)	NR	22/22 (100%)	Pimentel et al., 2012
	NR	286/2053 (13.93%)	NR	Guerra et al., 2013
	PE 21/83 (25.30%)	NR	NR	Ono et al., 2017
	13/96 (13.54%)	90/96 (93.75%)	8/56 (14.28%)	Andrade Neto et al., 2019
	NR	47/199(23.61%)	NR	Santos, 2013
	AL 2/11 (18.18%)	11/11 (100%)	2/11 (18.18%)	Andrade Neto et al., 2019
	BA 19/82 (23.17%)	NR	NR	Moreira et al., 2015
	RN 30/180 (16.66%)	NR	NR	Rodrigues et al., 2015
	SE 9/15 (60%)	NR	12/15 (80%)	Vieira et al., 2017
Sudeste	PI 1/78 (1.28%)	NR	NR	Lopes et al., 2018
	25/70 (35.71%)	136/396 (34.34%)	25/70 (35.71%)	Abrão et al., 2009 e Cuglovici et al., 2010
	0/327 (0%)	53/327 (16.20%)	NR	Frange et al., 2013
	MG NR	50/2118 (2.36%)	NR	Meneses, 2016
	NR	64/101 (63.36%)	NR	Germano et al., 2017
	178/971 (18.33%)	NR	NR	Reis et al., 2019
	NR	599/609 (98.35%)	NR	Cadioli et al., 2012
	SP 27/70 (38.57%)	NR	20/30 (66.66%)	Koether et al., 2017
	NR	11/32 (34.37%)	NR	Zanatto et al., 2019
	ES 10/22 (45.45%)	NR	NR	Schmith et al., 2020
Sul	RJ 26/268 (9.7%)	NR	46/246 (18.69%)	Costa et al., 2020
	RS 4/12	NR	4/12	da Silva et al., 2011
	SC 1/5 (20%)	NR	NR	Fávero et al., 2015

PA: Pará, AP: Amapá, TO: Tocantins. MT: Mato Grosso, MS: Mato Grosso do Sul, GO: Goiás, MA: Maranhão, PB: Paraíba, PE: Pernambuco, AL: Alagoas, BA: Bahia, RN: Rio Grande do Norte, SE: Sergipe, PI: Piauí, MG: Minas Gerais, SP: São Paulo, ES: Espírito Santo, RJ: Rio de Janeiro, RS: Rio Grande do Sul, SC: Santa Catarina. NR: Não Realizado.

E por último, e não menos importante, é observar que após os primeiros relatos da introdução em uma dada região, os casos clínicos agudos atribuíveis a *T. vivax*, na maioria

das vezes cessam e apenas persistem registros de diagnóstico sorológicos (BATISTA et al., 2007; GUEDES JUNIOR et al., 2008; GERMANO et al., 2017; PEREIRA et al., 2018; RAMOS et al., 2020).

Assim, temos que rever alguns dos nossos conceitos e “verdades” sobre a tripanosomíase bovina causada por *T. vivax*, reconsiderando nossos paradigmas e construindo conhecimento sobre o agente nas condições do continente americano; cuja transmissão é exclusivamente mecânica: por dípteros hematófagos e iatrogênica. Visto que até no continente africano a tripanosomíase por *T. vivax* não é considerada como grande patogenia, quando comparada com outras espécies naquele continente e transmitidas pelas tsetses, conforme afirma Gardiner (1989).

Diante destes fatos, é necessário definir o real impacto das infecções por *Trypanosoma* spp. em bovinos no Brasil, em especial no Pantanal; e o objetivo desta pesquisa foi determinar as prevalências parasitológica, molecular e sorológica de *Trypanosoma* spp. em bovinos no Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil, após mais de duas décadas de sua introdução na região.

Métodos

Área geográfica

As amostras foram coletadas em propriedades com exploração de gado de corte, no bioma Pantanal no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, nas sub-regiões do Abobral (Fazenda A: LAT: 19°48’S; LONG: 57°03’W), Nhecolândia (Fazenda B: LAT: 18°59’S; LONG: 56°39’W) e de Miranda (Fazenda C: LAT: 19°99’S; LONG: 56°88’W e Fazenda D: LAT: 19°94’S; LONG: 56°87’W).

Delineamento Experimental e Amostragem

O cálculo para definir o tamanho da amostragem foi realizada pelo software Epi Info™ 7.2.2.6 Centers for Disease Control and Prevention-CDC (DEAN et al., 2013), módulo Statcalc - Population Survey, considerando a população bovina de 3.982.736 animais no Pantanal de Mato Grosso do Sul, conforme censo agropecuário (IBGE, 2019), delineado sob a forma de amostragem probabilística aleatória simples estratificada (jovens e adultos) sem repetição em conglomerados (4 Clusters geográficos), estimando uma prevalência parasitológica esperada em 10%, com intervalo de confiança de 99% e 5% para

margem de erro aceitável, que totalizariam o mínimo de 240 amostras, para atender aos requisitos estabelecidos.

Durante o mês de maio de 2019, foram coletadas 312 amostras de sangue total em bovinos, por punção venosa na veia jugular em volume aproximado de 2 mL, tendo como anticoagulante ácido etilenodiaminotetra-acético dissódio dihidratado (EDTA-K₂) na concentração de 200mM/mL empregando o sistema Vacutainer® (BD™, São Paulo, Brasil); os animais eram predominantemente da raça Nelore, machos e fêmeas, sendo 110 de animais jovens com até 2 anos de idade e 202 adultos, acima de 2 anos. As amostras de sangue total foram mantidas em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), protegidas em caixas térmicas, até o processamento pela Técnica do Microhematócrito em no máximo até 6 horas após a coleta.

Para a obtenção dos soros sanguíneos, foi realizado outras coletas de um total de 170 amostras sangue (± 5 mL) em animais adultos, com no mínimo 42 amostras por propriedade, em tubos estéreis à vácuo, sem anticoagulante, em sistema Vacutainer® (BD™, São Paulo, Brasil), após retração do coágulo foram centrifugados, aliquotados em porções de aproximadamente 2 mL, e congelados para posterior processamento pela técnica de ELISA.

Diagnóstico parasitológico

As amostras de sangue total dos animais foram processadas pela técnica de centrifugação do microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955; BENNETT, 1962; WOO, 1969), também mais conhecida como Técnica de Woo, utilizando Tubo Capilar sem heparina (Perfecta Lab™, São Paulo, Brasil). Após a centrifugação em microcentrífuga a cerca de 11.000 rpm (≈ 310 g), foram registrados os volumes globulares individuais (VG) e o tubo capilar contendo a amostra foi examinado ao microscópio de luz, em objetiva 10x. Para aumentar a eficiência do exame, uma lâmina de microscopia 75x25mm com um anteparo de vidro 75x10mm colada, na lateral da lâmina tendo como função permitir que o tubo possa ser rotacionado durante o exame ao microscópio; procedimento semelhante é descrito por Vera-Ku et al. (2019).

Em sendo constatadas a presença de *Trypanosoma* spp., ao exame microscópico, os tubos de microhematócrito eram partidos na região da interface da camada leucocitária para confecção de lâminas por *Buffy Coat* (MURRAY et al., 1977); em seguida, após secagem, eram fixadas em álcool metílico P.A.- A.C.S. (Labsynth®, Diadema, SP, Brasil) e coradas

segundo Giemsa (formulada no laboratório), para caracterização morfológica e morfométrica dos espécimes presentes em microscopia de luz, em microscópio Leica modelo DM5500B com câmera DFC490 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) usando sistema LAS 3.8™ Leica® System (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Os caracteres considerados foram: posição, presença, forma do cinetoplasto, características da membrana ondulante, tamanho e forma dos espécimes observados, além da mensuração dos comprimentos total, do flagelo, distância entre cinetoplasto e núcleo e a distância entre cinetoplasto e porção anterior (HOARE, 1972).

Como critério para estimar a intensidade parasitária das amostras processadas pela Técnica do Microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955), foi estabelecido que o número de formas tripomastigotas observadas nos tubos indicariam a intensidade da parasitemia, sendo: + para amostras com 1 a 5; ++ de 6 a 10, +++ de 11 a 20 e ++++ acima de 20 formas parasitárias observadas, respectivamente.

Após o processamento dos exames parasitológicos, o volume de sangue restante nos tubos tipo Vacutainer, foi adicionado com álcool etílico 70° GL, na proporção de uma parte de sangue para duas de álcool, para posterior extração do DNA.

Diagnóstico molecular

A extração de DNA foi realizada conforme a metodologia descrita por Bruford et al. (1998), utilizando o protocolo de precipitação por acetato de amônio. O DNA extraído foi submetido a espectrometria em equipamento NanoDrop (NanoDrop™ One/One^c Microvolume UV-Vis Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific®, Waltham, Massachusetts, USA) para estimar a concentração e pureza das amostras, pelas relações 260/280 e 260/230 foram estimadas as quantidades e pureza das amostras de DNA extraídas.

O diagnóstico molecular empregado foi pela técnica de PCR-FFLB (Reação em Cadeia da Polimerase por *Fluorescent Fragment Length Barcoding*) (HAMILTON et al., 2008), realizado no Laboratório de Taxonomia e Filogenia de Tripanosomatídeos da Universidade de São Paulo, utilizando *primers* produzidos para caracterização de espécies de *Trypanosoma* spp. presentes no continente americano. Os *primers* pertencem às regiões do DNA ribossomal: 18S1 (18S-1f: ACCGWTTCGGCTTTTGTTGG e 18S-2r marcado com fluorocromo azul: CGGTCTAAGAATTTACCTC), 18S3 (18S-3f:

GACCR TTGTAGTCCACACTG e 18S-4r marcado com fluorocromo verde: CCCCTGAGACTGTAACCTC), 28S1 (28S-1f: GAAAGAGAGTGACATAGAAC e 28S-2r marcado com fluorocromo azul: TGTTTCAAGACGGGTGGGGGC) e 28S2 (28S-2f: CCCCCACCCGTCTTGAAACA e 28S-3r marcado com fluorocromo preto: GGGTCCAAACAGGCACACTC) (MASLOV et al., 1996; HAMILTON et al., 2005). Essa metodologia permite diferenciar espécies de *Trypanosoma* spp. pelo polimorfismo das regiões do *locus* rDNA.

Para a realização da reação da PCR, o *mix* de cada reação foi de 0,2mM de dNTP, tampão de PCR (BIOTAQ™ DNA Polymerase, BIOLINE, EUA), 0,5µM de cada *primer*, 3mM de MgCl₂, 0,5 U de RedTaq (Bioline), 0,1 a 8 µg da amostra de DNA como *template* e água livre de nucleases para completar o volume de 10µL. As reações foram realizadas com um dos iniciadores marcados com fluorescente (Prologo Sigma) e o outro padrão. O protocolo de termociclagem consistiu em: temperatura inicial de desnaturação de 95°C por 90 segundos, seguido de 30 ciclos: 95°C por 30 segundos, 62°C por 60 segundos, 72°C por 45 segundos e ao final dos ciclos, uma extensão a 72°C por 10 minutos. Os produtos das reações de PCR foram analisados em sequenciador automático Applied Biosystems™ 3500 Series (Thermo Fisher Scientific ®, USA), com os mesmos *primers* empregados na amplificação (HAMILTON et al., 2008).

Diagnóstico Sorológico

Foram processadas 170 amostras de soro de bovinos pelo ELISA (Ensaio Imunoenzimático), com proteína recombinante de *T. vivax*, empregando o kit em desenvolvimento denominado Imunoteste® *Trypanosoma vivax* (Imunodot Diagnósticos®, Jaboticabal – SP, Brasil), ainda em processo de registo, conforme as recomendações do fabricante.

Avaliação do Teste de Diagnóstico Parasitológico (Técnica do Microhematócrito)

Buscando estabelecer a validade da Técnica do Microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) para uso em triagem para tripanossomíases em animais assintomáticos e clinicamente saudáveis, foram calculados os parâmetros de Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo, Valor Preditivo Negativo, Testes de Acurácia, Prevalência

Verdadeira, Prevalência Aparente, Taxa de Falso Negativos e Taxa de Falso Positivos, usando o método da Tabela 2x2, segundo McKenna & Dohoo (2006) e Smith (2020); tendo definido como “padrão ouro” o método molecular PCR-FFLB (Hamilton et. al. 2008); conforme a disposição abaixo:

Resultados Testados	Status verdadeiro da presença do agente	
	Presença	Ausência
Positivos	Positivos verdadeiros (a)	Falso Positivos (b)
Negativos	Falso negativos (c)	Negativos verdadeiros (d)

Adaptado de Smith RD. Veterinary Clinical Epidemiology - From Patient to Population. Fourth Edition. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL USA. 2020. ISBN-13 978-1138392984.

Onde:

Teste Sensibilidade = $a \div (a + c)$

Teste Especificidade = $d \div (b + d)$

Valor Preditivo Positivo = $a \div (a + b)$

Valor Preditivo Negativo = $d \div (c + d)$

Teste de Acurácia = $(a + d) \div (a + b + c + d)$

Prevalência Verdadeira = $(a + c) \div (a + b + c + d)$

Prevalência Aparente = $(a + b) \div (a + b + c + d)$

Resultados e Discussão

O presente trabalho constituiu-se em uma pesquisa de prevalência transversal, mês de maio de 2019, na formatação de triagem (Smith, 2020), visto que os animais, na região, não apresentavam sinais clínicos atribuíveis ao parasitismo por *Trypanosoma* spp. e estavam presuntivamente saudáveis, e ainda a considerar que intensidade parasitária das espécies, presentes em bovinos na América do Sul, é geralmente baixa. Portanto, o trabalho foi acurado e com métodos simples e precisos, ao empregar a técnica do microhematócrito, estimativas de Volume globular (VG), método de ELISA e PCR-FFLB; que permitiram esclarecer a condição epidemiológica desses agentes nas condições do Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul. Com adoção do modelo de estratificação da amostragem, pretendeu-se avaliar a taxa de infecção entre adultos e jovens, assim como a inserção de “clusters” teve como objetivo estimar a presença do agente em uma vasta região com uma população dispersa, o que resultou em economia de recursos, como preconizados por McKenna & Dohoo (2006), Fletcher et al. (2014) e Smith (2020).

Digno de nota, ressaltar que a escolha do anticoagulante com formulação de ácido etilenodiamino tetra-acético dissódio dihidratado (EDTA-K₂), se deveu a estudos anteriores com tripanosomatídeos, nos quais o uso de ácido etilenodiamino tetra-acético trissódio trihidratado (EDTA-K₃) resultou em formas tripomastigotas imóveis alguns minutos após a coleta, o que dificultava a visualização e consequentemente em prejuízo ao diagnóstico pela técnica do microhematócrito (Fernando Paiva, informação pessoal; dados não apresentados).

A adoção do exame com rotação do tubo de microhematócrito contribui para aumentar a eficiência e rapidez no diagnóstico, fato reportado por Vera-Ku et al. (2019) como medida para aumentar a especificidade e sensibilidade da técnica.

As quatro propriedades, onde as amostras foram obtidas, adotam o manejo tradicional extensivo praticado para bovinos na região do Pantanal. Após o processamento das amostras pela técnica do microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) foram constatadas 14,42% (45/312) com *Trypanosoma* spp.; considerando as intensidades parasitárias, 37 animais foram classificados como “+”, 7 com “++” e apenas uma com “+++”, conforme contido na tabela 2. De forma geral as amostras positivas apresentavam, em sua maioria (82,22%), com baixa intensidade parasitária, de 1 a 5 espécimes por tubo capilar examinado.

As tripanosomíases em bovinos, quando em fase clínica aguda, a intensidade parasitária está associada aos sinais ou sintomas que são geralmente inespecíficos ou até mesmo obscuros, não há sintomas patognômicos (BÜSCHER, 2014), o que dificulta o diagnóstico clínico. Daí a importância do emprego de métodos e técnicas para diagnóstico, porém alguns disponíveis para a maioria das doenças infecciosas são complexas ou exigem habilidades dos profissionais envolvidos nessas tarefas. Em situações vivenciadas no campo, a técnica do microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) exige apenas microcentrífuga e microscópio de luz para ser executada por profissional habilitado no manuseio e destreza na observação. A identificação das espécies de *Trypanosoma* spp. pela técnica não é óbvia, mas a morfologia e padrão de movimentação dos espécimes podem contribuir para diagnóstico presuntivo (HOARE, 1972; BÜSCHER, 2014).

Tabela 2. Número de amostras com formas tripomastigotas e a intensidade parasitária* com *Trypanosoma* spp., e os respectivos percentuais, diagnosticados pela técnica do microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) em bovinos no Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil; no período de maio de 2019.

Fazendas	+	++	+++	++++	Positivos/Total (%)
A	8	2	0	0	10/50 (20)
B	7	0	0	0	7/76 (9,2)
C	7	2	0	1	10/106 (9,4)
D	15	3	0	0	18/80 (22,5)
Total (%)	37 (82,22)	7 (15,56)	0	1 (2,22)	45/312 (14,4)

* Critério adotado em relação ao número de formas tripomastigotas observadas nos capilares: + (1-5), ++ (6-10), +++ (11-20) e ++++ (>20)

Todas as amostras apresentavam os volumes globulares (VG) nas amplitudes de normalidade para a espécie animal (24-46%) considerando uma variação entre 21-30% (KRAFT & DÜRR, 2005; GEORGE et al., 2010; WOOD & QUIROZ-ROCHA, 2010), mesmo naquela única amostra com parasitemia classificada como “++++”, e portador de infecção por *T. vivax*, apresentou VG em 26% tendo sido colhida em fêmea adulta, clinicamente assintomática.

Pela PCR-FFLB, além de terem sido identificadas apenas duas espécies: *T. theileri* e *T. vivax* em bovinos no Pantanal, o índice de prevalência nas amostras foi maior do que a observada pela técnica do microhematócrito, visto que 34,61% (108/312) foram *T. theileri* e apenas 1,6% (5/312) como *T. vivax*. Apenas duas amostras apresentaram coinfeção por *T. theileri* e *T. vivax*, sendo dois animais adultos, e que não apresentaram formas tripomastigotas quando do exame pela técnica do microhematócrito. As prevalências parasitológicas e moleculares de *Trypanosoma* spp. estão contidas na tabela 3, considerando cada *cluster* individualmente.

A prevalência parasitológica para *Trypanosoma* spp. foi maior do que a estimada, quando do cálculo amostral; no entanto, muito próxima, visto que foi de 10% e o obtido resultou em 14,42%. A distribuição das prevalências nas propriedades (*clusters*) apresentou taxas maiores entre os jovens com 20,9 % (12 -40%) do que nos adultos 10,9% (3,92 -20%).

Tabela 3. Prevalências parasitológicas diagnosticadas pela técnica do microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) e molecular por PCR-FFLB (Hamilton et al. 2008) de *Trypanosoma* spp. em bovinos jovens e adultos na região do Pantanal, Mato Grosso do Sul – Brasil, no período de maio de 2019.

Fazendas (Cluster)	Categorias ¹	Número de animais	VG ² (%)	Técnica do micro hematócrito ³	PCR-FFLB ⁴	
					<i>T. theileri</i>	<i>T. vivax</i>
A	Adultos	50	29-42	20	88 (44/50)	2 (1/50)
B	Jovens	25	30 - 41	12	8 (2/25)	4 (1/25)
	Adultos	51	24-46	7,84	23,53 (12/51)	0
C	Jovens	55	31-41	14,54	20 (11/55)	0
	Adultos	51	25-39	3,92	13,73 (7/51)	3,92 (2/51)
D	Jovens	30	25-39	40	70 (21/30)	0
	Adultos	50	28-38	12	22 (11/50)	2 (1/50)
Total por	Jovens	110	25-41	20,9	30,9 (34/110)	0,9 (1/110)
Categorias	Adultos	202	28-46	10,9	36,63 (74/202)	1,98 (4/202)
Total Geral	-	312	24-46	14,42	34,61 (108/312)	1,6 (5/312)

¹ – Jovens idade <2 anos; Adultos >2 anos; ² – Amplitude de variação no VG; ³ – Percentual (%) de amostras com formas tripomastigotas de *Trypanosoma* spp. presentes; ⁴ – Percentual (%) de amostras que amplificaram para cada uma das espécies pela reação em cadeia da polimerase por *Fluorescent Fragment Length Barcoding*.

No entanto, a prevalência pela PCR-FFLB apresentou predomínio de *T. theileri* (34,61%), a qual historicamente tem se caracterizada por baixa intensidade em rebanhos bovinos pois, de forma geral, a infecção é subpatente, sendo rara a detecção em esfregaços sanguíneos ou mesmo pela técnica do microhematócrito; sendo mais frequentemente encontrada quando em hemoculturas, variando de 4,06% a 74% (NUNES et al., 1983; PACHECO et al., 2018) e por PCR (RODRIGUES et al., 2003; HAJIHASSANI et al., 2020); não há registros com diagnóstico sorológico para esta espécie. A distribuição das prevalências, nas propriedades e considerando a *T. theileri*, nos jovens foi de 30,9% (8-70%) e nos adultos 36,63% (13,73 – 88%). A prevalência da *T. vivax*, obtida pela PCR-FFLB, na população amostrada, foi de apenas 1,6%. Considerando as duas categorias, nos jovens foi de 0,9% e nos adultos 1,98%.

No Brasil são mais numerosos os registros de casos com *T. vivax* em bovinos (Tab. 1), praticamente em todas as regiões; no entanto, os registros de *T. theileri* são poucos

(SILVEIRA et al., 1984; BRUM et al., 2012; PACHECO et al., 2018; AMATO et al., 2019). No estado de Mato Grosso do Sul, os registros de *T. vivax* são restritos ao Pantanal (PAIVA et al., 1997; DÁVILA et al., 2003; MADRUGA et al., 2006; MELLO et al., 2019; ZANATTO et al., 2019 e RAMOS et al., 2020).

Diante dos resultados obtidos pelas duas técnicas diagnósticas, e considerando a simplicidade necessária, restou estabelecer as características intrínsecas de validade da Técnica do Microhematócrito pelo método da Tabela 2x2 (McKenna & Dohoo, 2006; Smith, 2020), adotando a PCR-FFLB como “padrão ouro” conforme a tabela 4.

Tabela 4. Tabela 2x2 para avaliação do Teste de Microhematócrito para diagnóstico de *Trypanosoma* spp.

Técnicas	PCR-FFLB (Padrão Ouro)		
	Resultados	Positivo	Negativo
Técnica de Microhematócrito	Positivo	VP (a)= 43	FP (b)= 2
	Negativo	FN (c)= 68	VN (d)= 199

VP: Verdadeiros Positivos; FP: Falsos Positivos; FN: Falsos Negativos; VN: Verdadeiros Negativos.

Ao empregar essa análise, a sensibilidade (SE) foi de 0,39 e a especificidade (SP) 0,99; ambas permitem definir como baixa SE e alta SP, de tal forma a estabelecer corretamente se a infecção está presente no animal; ademais considerando que 82,22% das amostras apresentavam baixa intensidade parasitária, menos que 5 formas tripomastigotas observadas. O Valor Preditivo Positivo foi estabelecido em 0,95, o qual dá segurança em afirmar que pela correta aplicação da Técnica do Microhematócrito é possível predizer sobre a existência da infecção. Assim como, o Valor Preditivo Negativo calculado de 0,75 assegura a confiabilidade razoável de que, frente ao resultado negativo, o animal não atuará como portador. Da mesma forma, os resultados calculados da Prevalência Verdadeira em 0,35 é semelhante a encontrada pelo método molecular em 35,6%, se considerarmos as duas espécies diagnosticadas em conjunto. Assim como a Prevalência Aparente de 0,14 comportam aos valores obtidos e efetivos da prevalência de *Trypanosoma* spp. pela Técnica de Microhematócrito de 14,4% na população amostrada.

O teste de acurácia também apresentou resultado de 0,77, o qual pode ser considerado como bom. Destaca-se que o valor da Taxa de Falso Negativos de 0,22 é fator a ser

considerado, principalmente porque foi calculado em situação com intensidades parasitárias muito baixas, predominando em 82,22% das amostras, intensidade inferior a 5 formas tripomastigotas.

E ainda, a possibilidade de casos falsos positivos ser mínima, visto que a Taxa de Falso Positivos foi de 0,01; que corresponde a probabilidade de um resultado ser afirmado como positivo em animal sabidamente livres da parasitose (SMITH, 2020). E, mais uma vez considerando, que apenas duas amostras reconhecidas como positivas pela Técnica do Microhematócrito não amplificaram pela PCR-FFLB, sendo razoável supor que a infecção era composta por poucos exemplares, ao ponto de não haver detecção por reação molecular, o que infelizmente as razões são desconhecidas.

Um fato a ser considerado para os índices calculados terem apresentado um bom desempenho da técnica do microhematocrito, pode ser atribuído a rotação do tubo quando do exame, visto que os espécimes se posicionam na borda inferior do tubo, assim a rotação permite observar o conteúdo de forma dinâmica; e claro, ajustando o foco do objeto continuamente.

Porém, quando da escolha de testes diagnósticos mais simples sempre existirá algum risco de classificação incorreta, o que é justificado pela viabilidade e custos; exigindo equilíbrio entre o risco de fazer um diagnóstico incorreto e o custo relativo de resultados falso-positivos e falso-negativos (THEURER et al., 2015).

Pelo exame dos *Buffy coat*, em apenas algumas amostras foi possível realizar a morfometria de espécimes de *Trypanosoma* spp.; isto porque naqueles capilares com intensidades parasitárias classificados como “+”, o encontro de formas tripomastigotas é raro. Foi possível identificar morfologicamente a presença de *T. vivax* e *T. theileri* (Fig. 1), que são assim distinguíveis: *T. vivax* é pequena, possui cinetoplasto terminal bem conspícuo e sua membrana ondulante é pouco exuberante (HOARE, 1972; SHAW & LAINSON, 1972; PAIVA et al., 1997; CARVALHO et al., 2008) e *T. (Megatrypanum) theileri* é maior, apresenta membrana ondulante bastante definida e expandida (DIKMANS et al., 1957; HOARE, 1964, HOARE, 1972; BÖSE & HEISTER, 1993), os caracteres mensurados estão contidos na tabela 5. Restando assim prejudicada a eficiência apregoada por Murray et. al. (1977) para a técnica do *Buffy coat*, particularmente em situações com intensidade parasitária

baixa, como a verificada no presente trabalho, nas quais a técnica do microhematócrito se mostrou mais eficiente, com boa performance determinada pela análise usando a tabela 2x2.

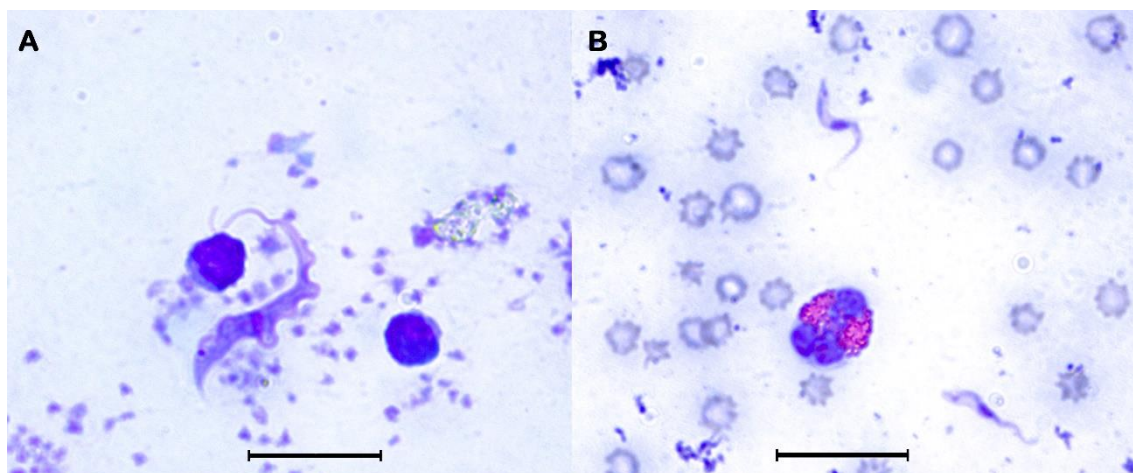


Figura 1. Espécimes de *Trypanosoma theileri* (A) e *Trypanosoma vivax* (B), observados em *Buffy coat* (MURRAY, et. al., 1977) obtidos em tubos de microhematócrito após processamento pela Técnica do Microhematócrito (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) corados segundo Giemsa. Barra de escala 20 µm.

Tabela 5. Registros morfométricos de espécimes identificados como *Trypanosoma theileri* e *Trypanosoma vivax*, obtidos em *Buffy coat* (MURRAY et. al., 1977) em capilares de microhematócritos processados (DEVIGNAT & DRESSE, 1955) com sangue de bovinos amostrados no Pantanal de Mato Grosso do Sul; medidas em micrometro (µm).

Espécies / caracteres de mensuração	<i>T. theileri</i> ¹	<i>T. vivax</i> ²
Comprimento total	52,54 - 53,77	19,7 - 23,5
Comprimento do flagelo	58,44 - 60,10	20,64-22,8
Distância cinetoplasto-núcleo	8,06-10,08	4,27-5,54
Distância cinetoplasto-anterior	5,41-7,34	0,35-2,6

¹- 2 espécimes; ²- 4 espécimes.

No diagnóstico sorológico, pelo teste de ELISA para *T. vivax* foi constatada a prevalência de 50,59% (86/170) das amostras como reagentes; foram observadas diferenças entre as propriedades (31,7 a 62,79%) e em relação à média (figura 2 e tabela 6); os resultados são semelhantes ao observado por Madruga et al. (2006) cuja média foi de 56% em animais reagentes na região do Pantanal, há 15 anos; ao que parece o quadro se manteve.

Considerando a resposta imune humoral, Schenk et al. (2001) informam que após a indução da infecção a soroconversão ocorreu do 6 a 8 dias após a infecção. E Büscher (2014), destaca que os animais permanecem com anticorpos específicos para *Trypanosoma* spp. detectáveis por meses ou anos, mesmo após tratamento curativo.

Castilho Neto et al. (2021) em monitoramento sorológico em rebanho leiteiro, portadores de infecção naturalmente adquirida por *T. vivax* diagnosticados pela técnica de LAMP (Loop-mediated isothermal amplification test) e todos negativos parasitologicamente pelo método da gota espessa. Os animais submetidos a dois tratamentos com isometamidium; e entre os critérios de acompanhamento a sorologia periódicas pós-tratamento dos animais pelo ELISA; o curioso é que os animais apresentaram flutuação nos títulos em poucos dias, a tal ponto que alguns abaixo do *cut-off*. Tais resultados induzem a pensar que a resposta humoral por IgG modulada por *T. vivax* é de curta duração e exige apresentações dos antígenos com regularidade para sua manutenção; é uma questão importante e que merece ser investigada.

Tabela 6. Resultados pelo teste de ELISA¹ para *T. vivax*, em soros de bovinos adultos na região do Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil.

Fazendas / Cluster	% amostras reagentes
A	31,70
B	46,51
C	60,46
D	62,79
GERAL	50,59

¹ – Kit diagnóstico em desenvolvimento Imunoteste® *Trypanosoma vivax* (Imunodot Diagnósticos®, Jaboticabal – SP, Brasil)

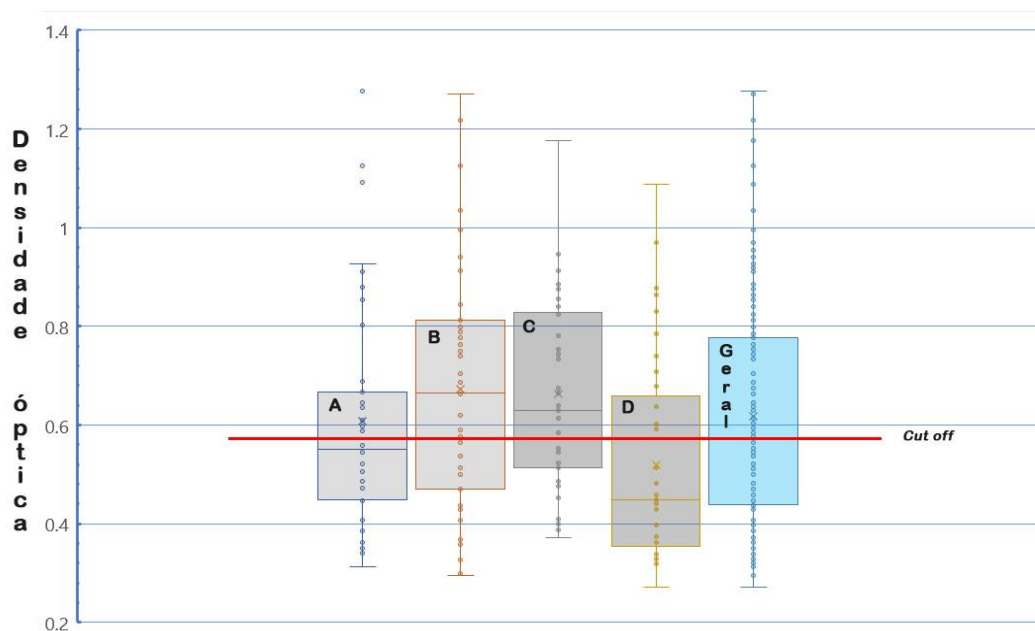


Figura 2. Representação da distribuição das densidades ópticas observadas nos *cluster* A, B, C, D e Geral da amostragem, pela reação de ELISA para *T. vivax*, em soros de bovinos adultos na região do Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil, empregando o kit Imunoteste® *Trypanosoma vivax* (Imunodot Diagnósticos®, Jaboicabal – SP, Brasil), com proteína recombinante. *Cut off* 0.567 ηm .

Uma característica comum aos vários relatos de infecção por *Trypanosoma vivax* em bovinos, não só no Brasil, mas na América do Sul, é o surgimento repentino do agente parasitário em uma determinada região (GIBSON, 2005), com a constatação de sintomas clínicos atribuíveis e pela presença ou mesmo por diagnósticos sorológicos ou moleculares (BATISTA et al., 2007; CADIOLI et al. 2012; GARCIA et al. 2014; RODRIGUES et al., 2015). Em tais situações, geralmente os animais que superam a fase clínica aguda, recuperam os parâmetros sanguíneos, permanecem assintomáticos e a parasitemia reduz a níveis quase não detectáveis (PAIVA et al. 2000a; DÁVILA et al., 2003; GIBSON, 2005; LINHARES et al., 2006; MADRUGA et al., 2006; GUEDES JUNIOR et al., 2008; MARTINS et al., 2008; GARCIA et al. 2014; GONZATTI et al. 2014; GUEDES et al. 2019; MELLO et al., 2019; RAMOS et al., 2020 e CASTILHO NETO et al. 2021). E curiosamente, após estes relatos iniciais, não mais são registrados casos recorrentes e aparentemente a forma aguda inicial não são mais reportadas. No entanto, Paiva et al. (2000b), Gibson (2005) e Garcia et al.

(2016) alertam que em situações de estresse, restrições alimentares, secas prolongadas e outras situações adversas aos animais podem contribuir para o surgimento de casos agudos.

Diante dos resultados das prevalências parasitológicas, moleculares e sorológicas das tripanosomíases bovinas registradas no presente estudo, na região do Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul, a dinâmica da infecção pode ser explicada pelo modelo “S-I-R” (KEELING & ROHANI, 2008), onde: “S” são os animais previamente não expostos, “I” aqueles carregando o agente e “R” os animais que desenvolveram resposta imune efetiva e até eliminaram o agente infeccioso e devem permanecer refratários à outras infecções, enquanto a memória imunológica persistir. É um modelo consistente e plausível para a dinâmica das tripanosomíases, se considerarmos os registros de infecções por *T. vivax* nas condições brasileiras (PAIVA et al. 2000b; DÁVILA et al., 2003; GIBSON, 2005; LINHARES et al., 2006; MADRUGA et al., 2006; GUEDES JUNIOR et al., 2008; MARTINS et al., 2008; GARCIA et al. 2014; GONZATTI et al. 2014; GUEDES et al. 2019; MELLO et al., 2019; RAMOS et al., 2020 e CASTILHO NETO et al. 2021) e mesmo africanas (NANTULYA, 1986; UZOIGWE, 1986 e BÜSCHER, 2014).

Pois temos ainda que considerar, segundo Smith (2020), se parte da população exposta não é completamente susceptível (S) a transmissibilidade do agente é reduzida, o que se expressa pelo número efetivo da reprodução R_0 , o qual também pode ser definido como a facilidade do agente se disseminar na população, que é a definição de “comunicabilidade”. O R_0 depende de três parâmetros: 1- duração da infecção (período patente parasitológico), 2- a probabilidade de transferência do agente pelo vetor, e 3- do número de indivíduos susceptíveis na população, por um dado período (DELAMATER et al., 2019). Avaliando esses três parâmetros, para a situação da *T. vivax* no Pantanal, temos:

1- Duração do período patente parasitológico, com induções de infecções observadas em isolados no Brasil, é de poucos dias, com intensidade parasitária detectável do 3 ao 50º dia pós infecção (PAIVA et al. 2000a; SCHENK et al. 2001; FIDELIS JUNIOR et al. 2016; CASTILHO NETO et al. 2021), destacando que essas induções foram realizadas com inóculos consideráveis ($\approx 2 \times 10^6$) e em condições experimentais, mesmo assim indica que esse parâmetro é um fator limitante para a dispersão do agente.

2- Probabilidade de transferência do agente pelo vetor, se a possibilidade de transmissão mecânica é bem reduzida, como avaliado e comentado por Foil et al. (1987), sobre a transmissão mecânica de *Trypanosoma* spp.; é necessário ter em conta a proximidade entre os animais infectados e susceptíveis, o número e comportamento do hematofagismo dos vetores em potencial, a intensidade parasitária nos portadores, o *status* imunitário do rebanho; entre outros, constituem em pontos de estrangulamento para o sucesso da transmissão. Os mesmos autores estimaram que em tabanídeo (*Tabanus fuscicostatus*) o sangue residual na proboscíde é de 10 μL^3 , em outro relato Foil (1983) estimou que apenas 2-3% dos tabanídeos atingem o segundo hospedeiro em até 10 minutos, e que esse percentual decresce a 0% após 50 minutos; e assim, diante desses fatos, podemos especular que nas condições do Pantanal a taxa de transmissão (THRUSFIELD & CHRISTLEY, 2018) de *T. vivax* é muito baixa; mesmo considerando que a transmissão mecânica por inúmeras espécies de hematófagos torna a capacidade de dispersão maior.

3- E finalmente, sobre número de indivíduos susceptíveis na população, ao considerar a prevalência obtida pela PCR-FFLB, para *T. vivax*, o percentual de animais na condição “I” em 1,6% e que o percentual daqueles na condição “R” em 50,59%, como de reativos pelo ELISA, indica que mais da metade da população possui resposta humoral contra o agente.

Pois o número de reprodução básico, denominado R_0 , é "o número esperado de casos secundários produzidos, em uma população completamente suscetível, por um indivíduo infectado típico" (van den DRIESSCHE & WATMOUGH, 2002). Os parâmetros acima, refletem que os equilíbrios são biologicamente significativos; principalmente porque se $R_0 < 1$, então o equilíbrio livre de infecção/doença (DFE) é localmente estável, e o agente não apresenta altas taxas de infecção na população. Garcia et al. (2014) e Guedes et al. (2019) relatam reconhecendo o equilíbrio enzoótico ou endêmico por *T. vivax* em outras áreas da América do Sul.

E, portanto, diante desses fatos e argumentos, podemos afirmar que nas condições do Pantanal a *T. vivax* apresenta em equilíbrio endêmico ou equilíbrio livre de infecção/doença (DFE), em relação ao modelo SIR (KEELING & ROHANI, 2008; van den DRIESSCHE & WATMOUGH; 2002; SMITH, 2020). O equilíbrio endêmico ou estabilidade endêmica é

reconhecida em outras infecções causadas por protozoários em bovinos, como principalmente em *Theileria* spp., *Babesia* spp. e *Ehrlichia ruminantium* (MAHONEY & ROSS, 1972; DEEM et al. 1996) e pode ser definida como estado epidemiológico da população no qual o agente/doença é raro a despeito do nível de infecção e presença no ambiente (COLEMAN et al. 2001). Greenhalgh et al. (2000) reportam para algumas infecções, os soropositivos ainda podem ter mais de um episódio da infecção, embora aqueles que já a sofreram apresentem resistência imunológica parcial. Os animais que experimentam um segundo período de infecção ou período subsequente podem não apresentar necessariamente sintomas clínicos. Nesta configuração, a condição de imunidade individual determina o declínio da infecção de tal forma que a população possa ser protegida de novas infecções; que em síntese é condição de imunidade de rebanho (FINE et al. 2011).

Coleman et al. (2001) consideram que a estabilidade endêmica requer apenas dois requisitos: a) que probabilidade da infecção causar doença com severidade aumenta com a idade do hospedeiro, e b) que após a primeira infecção as demais subseqüentes tenham baixa probabilidade de manifestar sintomas. O primeiro postulado podemos confirmar que em situações de surtos em áreas não endêmicas, os sinais clínicos são mais evidentes assim com a morbidade em animais adultos (PAIVA et al. 2000b; DÁVILA et al., 2003; GIBSON, 2005; LINHARES et al., 2006; MADRUGA et al., 2006; GUEDES JUNIOR et al., 2008; MARTINS et al., 2008; GARCIA et al. 2014; GONZATTI et al. 2014; GUEDES et al. 2019; MELLO et al., 2019; RAMOS et al., 2020 e CASTILHO NETO et al. 2021). Sendo, o segundo critério, em síntese, o desenvolvimento imunidade adquirida ou uma forma de resistência, que também está coerente com as situações posteriores aos surtos no Brasil (PAIVA et al. 2000b; BATISTA et al., 2007; GUEDES JUNIOR et al., 2008; GERMANO et al., 2017; PEREIRA et al., 2018; RAMOS et al., 2020).

Portanto diante de tais postulados, podemos acolher como válidos para os aspectos epidemiológicos da *T. vivax* no Pantanal, e principalmente frente aos resultados aqui apresentados. Destacando por oportuno que, de forma geral, temos que ter discernimento em diferenciar “doença” de infecção; que são distintas clinicamente.

Em relação a *T. theileri* não é possível afirmar também que haja um equilíbrio enzoótico na região do Pantanal, primeiro porque é reconhecida como de baixa

patogenicidade (SQUARRE et al. 2020), segundo porque não temos referência sobre testes de imunogenicidade para a espécie na região e mesmo em outras. Outro importante aspecto, a ser considerado quando se analisa a prevalência de *T. theileri* (34,61 %) em comparação a *T. vivax* (1,6%) é que a primeira possui vetor biológico em abundância na região (BARROS, 2001) e, portanto, há multiplicação vetorial que irá assegurar um inóculo maior quando da infecção (THRUSFIELD & CHRISTLEY, 2018) e a segunda espécie apenas mecânica, sem multiplicação no vetor.

Conclusão

As espécies *Trypanosoma theileri* e *Trypanosoma vivax* foram as únicas encontradas em bovinos no Pantanal Sul-mato-grossense. Nenhum animal apresentou baixo volume globular ou sintomatologia clínica compatível com tripanosomíase. A espécie *T. theileri*, pela PCR-FFLB, foi a mais prevalente nos rebanhos com 34,61% (108/312), devido a sua maior capacidade de transmissão do agente pelo vetor biológico para os hospedeiros, em contraste com a *T. vivax* com 1,6% (5/312), que é transmitida apenas mecanicamente.

A situação epidemiológica da infecção por *T. vivax* em bovinos no Pantanal, se caracteriza por baixa intensidade parasitária (82,22% dos indivíduos detectados apresentando 1-5 parasitas pela Técnica do Microhematócrito), poucos indivíduos infectados com *T. vivax* na PCR-FFLB (5 animais), presença de, pelo menos, metade dos bovinos com a presença de anticorpos (50,50%) e a característica de baixa transmissibilidade (FOIL, 1983; FOIL et al., 1987) do agente restrito a forma mecânica, se encontra em Equilíbrio Enzoótico ou Equilíbrio Endêmico (COLEMAN et al., 2001; KEELING & ROHANI, 2008). Além disso, a infecção pode transcorrer por longo tempo e constantemente por todo ano (BARROS, 2001), uma vez que o animal consiga adquirir imunidade, a parasitemia diminui até cessar tornando o número de reprodução básico (R_0) <1 , pois grande parte da população exposta ao *T. vivax* não é mais susceptível.

Em associação com os históricos clínicos anteriores, a Técnica de Microhematócrito pode ser empregada como ferramenta diagnóstica para *Trypanosoma* spp. em rebanhos bovinos em condições de campo, para detecção das formas tripomastigotas mesmo que em baixa intensidade parasitária e para a determinação da principal alteração clínica

determinada pela tripanosomíase que é a anemia. Porém, essa técnica não se distingue a espécie, sendo necessária a realização de técnicas moleculares como a PCR-FFLB que proporciona a diferenciação das espécies e de testes sorológicos como o ELISA para definir a imunidade de rebanho para a determinação da situação epidemiológica dos parasitas em rebanhos bovinos.

Referencias

- Abrão DC, Carvalho, AU, Filho EJJ, Saturnino HM, Ribeiro MFB. Impacto econômico causado por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no estado de Minas Gerais. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2009, Belo Horizonte. Ci Anim Bras. 2009; Suppl 1:672-676.
- Amato B, Mira F, Lo Presti VDM, Guercio A, Russotto L, Gucciardi F, Vitale M, Lena A, Loria GR, Puleio R, Cannella V. A case of bovine trypanosomiasis caused by *Trypanosoma theileri* in Sicily, Italy. Parasitol Res. 2019;118(9):2723-2727. DOI: 10.1007/s00436-019-06390-y
- Andrade Neto AQ, Mendonça CL, Souto RJC, Sampaio PH, Fidelis Junior OL, André MR, Machado RZ, Afonso JAB. Diagnostic, Clinical and Epidemiological aspects of dairy cows naturally infected by *Trypanosoma vivax* in the states of Pernambuco and Alagoas, Brazil. Braz J Vet Med. 2019;41(1):e094319. DOI: <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm094319>
- Barros ATM. Seasonality and relative abundance of Tabanidae (Diptera) captured on horses in the Pantanal, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001; 96(7):917-923 DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000700006>
- Bastos TSA, Linhares GFC, Freitas TMS, Silva LAF, Cunha PHJ. Surto de Tripanossomose Bovina desencadeado após manejo inadequado durante aplicação de medicamento endovenoso. Ars Vet. 2013;29(4):63. DOI: <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2013v29n4p63>
- Bastos TSA, Faria AM, Madrid DMC, Bessa LC, Linhares GFC, Fidelis Junior OL, Sampaio PH, Cruz BC, Cruvinel LB, Nicaretta JE, Machado RZ, Costa AJ, Lopes WDZ. First outbreak and subsequent cases of *Trypanosoma vivax* in the state of Goiás, Brazil. Braz J Vet Parasitol. 2017;26(3):366-371. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017019>
- Bastos TSA, Faria AM, Couto LFM, Nicaretta JE, Cavalcante ASA, Zapa DMB, Ferreira LL, Heller LM, Madrid DMC, Cruvinel LB, Rossi GAM, Soares VE, Cadioli FA, Lopes WDZ. Epidemiological and molecular identification of *Trypanosoma vivax* diagnosed in cattle during outbreaks in central Brazil. Parasitology. 2020;147(2):1313-1319. DOI:

10.1017/S0031182020001006

Batista JS, Riet-Correa F, Barbosa RC, Guerra JL. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. *Pes Vet Bras*. 2006;26(1):31-37. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2006000100007>

Batista JS, Riet-Correa F, Teixeira MMG, Madruga CR, Simões SDV, Maia TF. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Vet Parasitol*. 2007;143(2):174-181. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.08.017

Batista JS, Bezerra FSB, Lira RA, Carvalho JRG, Neto AMR, Petri AA, Teixeira MMG. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesq Vet Bras*. 2008;28(1):63-69. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2008000100010>

Batista JS, Oliveira AF, Rodrigues CMF, Damasceno CAR, Oliveira IRS, Alves HM, Paiva ES, Brito PD, Medeiros JMF, Rodrigues AC, Teixeira MMG. Infection by *Trypanosoma vivax* in goats and sheep in the Brazilian semiarid region: From acute disease outbreak to chronic cryptic infection. *Vet Parasitol*. 2009; 165(2009):131-135. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.07.005

Bennett, G. F. (1962). The hematocrit centrifuge for laboratory diagnosis of hematozoa. *Canadian Journal of Zoology*, 40(1), 124–125. DOI:10.1139/z62-014

Browne AJ, Guerra CA, Alves RV, Costa VM, Wilson AL, Pigott DM, Hay SI, Lindsay SW, Golding N, Moyes CL. The contemporary distribution of *Trypanosoma cruzi* infection in humans, alternative hosts and vectors. *Sci Data*. 2017;4:170050. DOI: 10.1038/sdata.2017.50

Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, Burke T. 1998. Multilocus and single-locus DNA fingerprinting. In: *Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach*. 2nd edition. Hoelzel, A.R. (ed.). 1998; 287–336.

Brum I, Da Silva AS, Oliveira CB, Bastiani FT, Rosa LD, Monteiro SG. *Trypanosoma theileri* in cattle herd of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Comp Clin Pathol*. 2012;21:197-199.

DOI:10.1007/s00580-011-1261-0

Böse R, Friedhoff KT, Olbrich S, Büscher G, Domeyer I. Transmission of *Trypanosoma theileri* to cattle by Tabanidae. Parasitol Res. 1987;73:421-424. DOI: 10.1007/BF00538199.

Böse R, Heister NC. Development of *Trypanosoma (M.) theileri* in Tabanids. J Euk Microbiol. 1993;40(6):788-792. DOI: 10.1111/j.1550-7408.1993.tb04475.x.

Boulhosa, J. Informação científica. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1946. p.21-26. (Boletim Técnico).

Büscher P. Diagnosis of African Trypanosomiasis in Magez S, Radwanska M. Trypanosomes and Trypanosomiasis. 2014 Springer-Verlag Wien. ISBN 978-3-7091-1556-5

Cadioli FA, Barnabé PA, Machado RZ, Teixeira MCA, André MR, Sampaio PH, Fidelis Junior OL, Teixeira MMG, Marques LC. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2012;21(2):118-124. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000200009>

Carini A. Présence de trypanosomes chez bovidés à São-Paulo. São Paulo. 1911;4:191-192. (Bulletin de la Société de Pathologie Exotique).

Carvalho AU, Abrão DC, Facury Filho EJ, Paes PRO, Ribeiro MFB. Occurrence of *Trypanosoma vivax* in Minas Gerais state, Brazil. Arq Bras Med Vet Zootec. 2008;60(3):769-771. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000300037>

Castilho Neto KJGA, Garcia ABDCE, Fidelis Junior OL, Nagata WB, André MR, Teixeira MMG, Machado RZ, Cadioli FA. Follow-up of dairy cattle naturally infected by *Trypanosoma vivax* after treatment with isometamidium chloride. Rev Bras Parasitol Vet. 2021 Apr 26;30(1):e020220. DOI: 10.1590/S1984-29612021019.

Chávez-Larrea MA, Medina-Pozo ML, Cholota-Iza CE, Jumbo-Moreira JR, Saegerman C, Proaño-Pérez F, Ron-Román J, Reyna-Bello A. First report and molecular identification of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* outbreak in cattle population from Ecuador. Transbound Emerg Dis. 2020. DOI: 10.1111/tbed.13906.

Coleman PG, Perry BD, Woolhouse MEJ. Endemic stability – a veterinary idea applied to human

- public health. The Lancet. 2001; 357:1284-1286. DOI: 10.1016/s0140-6736(00)04410-x
- Costa VC, Abreu APM, Thomé SMG, Massard CL, Santos HA, Ubiali DG, Brito MF. Parasitological and clinical-pathological findings in twelve outbreaks of acute trypanosomiasis in dairy cattle in Rio de Janeiro state, Brazil. Vet Parasitol Reg Stud Reports. 2020;22:100466. DOI: 10.1016/j.vprsr.2020.100466
- Cuglovici DA, Bartholomeu DC, Reis-Cunha JL, Carvalho AU, Ribeiro MFB. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state, Brazil. Vet Parasitol. 2010;169:320-326. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.12.041
- Da Silva AS, Perez HAG, Costa MM, França RT, Gasperi D, Zanette RA, Amado JA, Lopes STA, Teixeira MMG, Monteiro SG. Horses naturally infected by *Trypanosoma vivax* in southern Brazil. Parasitol Res. 2011;108:23-30. DOI: 10.1007/s00436-010-2036-2
- Dávila AMR, Herrera HM, Schlebinger T, Souza SS, Traub-Cseko YM. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomosis in the Pantanal, Brazil. Vet Parasitol. 2003;117:1-13. DOI: 10.1016/j.vetpar.2003.08.002
- Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Versão. www.OpenEpi.com, atualizado 2013/04/06, acessado 2021/01/22.
- Deem SL, Noval RAI, Yonow T, Peter TF, Mahan SM, Burr ridge MJ. The epidemiology of heartwater: Establishment and maintenance of endemic stability. Parasitol Today. 1996; 12(10), 402–405. DOI: 10.1016/0169-4758(96)10057-0
- Delamater PL, Street EJ, Leslie TF et al. Complexity of the basic reproduction number (R_0). Emerg Infect Dis 2019;25:1–4. DOI: 10.3201/eid2501.171901
- Devignat R, Dresse A. Micro-technique simple et rapide de concentration du sang en trypanosomes [Simple and rapid technic for determination of trypanosomes in micro quantities of blood]. Ann Soc Belg Med Trop. 1955;35(3):315-21.
- Dikmans G, Manthei CA, Frank AH. Demonstration of *Trypanosoma theileri* in the stomach of an aborted bovine fetus. Cornell Vet. 1957; 47(3):344-353.
- Dyonisio GHS. Batista HR, Da Silva RE, Azevedo RCF, Costa JOJ, Manhães IBO, Tonhosolo

- R, Gennari SM, Minervino AHH, Marcili A. Molecular diagnosis and prevalence of *Trypanosoma vivax* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) in buffaloes and ectoparasites in the brazilian amazon region. J Med Entomol. 2020;58(1):403-407. DOI: <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa145>
- Fávero JF, Da Silva AS, Biazus AH, Volpato A. *Trypanosoma vivax* infection in goat in West of Santa Catarina state, Brazil. Comp Clin Pathol. 2015;25:497-499. DOI:10.1007/s00580-015-2216-7
- Fidelis Junior OL, Sampaio PH, Machado RZ, André MR, Marques LC, Cadioli FA. Evaluation of clinical signs, parasitemia, hematologic and biochemical changes in cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. Rev Bras Parasitol Vet. 2016 Jan-Mar;25(1):69-81. DOI: 10.1590/S1984-29612016013.
- Fine P, Eames K, Heymann DL. "Herd immunity": a rough guide. Clin Infect Dis. 2011 Apr 1;52(7):911-6. DOI: 10.1093/cid/cir007
- Fletcher RH, Fletcher SW, Fletcher GS. Clinical Epidemiology - The Essentials. Fifth Edition Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. USA, 2014. ISBN 978-1-4511-4447-5
- Franco JR, Cecchi G, Priotto G, Paone M, Diarra A, Grout L, Mattioli RC, Argaw D. Monitoring the elimination of human African trypanosomiasis: Update to 2014. PLoS Negl Trop Dis. 2017;11(5):e0005585. DOI: DOI: 10.1371/journal.pntd.0005585
- Frangé RCC, Bittar ER, Bittar JFF, Campos MTG. Tripanossomíase em vacas da microregião de Uberaba – MG: estudo soroepidemiológico. In: VII ENCONTRO DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO, II CONGRESSO INTERNACIONAL TRABALHO DOCENTE E PROCESSOS EDUCATIVOS, 1, 2013. Uberaba. Revista Encontro de Pesquisa em Educação. 2013;1(1):3.
- Foil L. A mark-recapture method for measuring effects of spatial separation of horses on tabanid (Diptera) movement between hosts. J Med Entomol. 1983; 20:301–305. DOI: <https://doi.org/10.1093/jmedent/20.3.301>
- Foil LD, Adams WV, McManus JM, Issel CJ. Bloodmeal residues on mouthparts of *Tabanus fuscicostatus* (Diptera: Tabanidae) and the potential for mechanical transmission of

- pathogens. J Med Entomol. 1987; 24(6):613-6. DOI: 10.1093/jmedent/24.6.613
- Galiza GJN, Garcia HÁ, Assis ACO, Oliveira DM, Pimentel LA, Dantas AFM, Simões SVD, Teixeira MMG, Riet-Correa F. High mortality and lesions of the central nervous system in Trypanosomosis by *Trypanosoma vivax* in Brazilian hair sheep. Vet Parasitol. 2011;182:359-363. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.05.016
- Garcia, HA, Rodrigues AC, Rodrigues CMF, Bengaly Z, Minervino AHH, Riet-Correa F, Machado RZ, Paiva F, Batista JS, Neves L, Hamilton PB, Teixeira MMG. Microsatellite analysis supports clonal propagation and reduced divergence of *Trypanosoma vivax* from asymptomatic to fatally infected livestock in South America compared to West Africa. Parasit Vectors. 2014. 7:210. DOI: 10.1186/1756-3305-7-210
- Garcia HA, Ramírez OJ, Rodrigues CMF, Sánchez RG, Bethencourt AM, Pérez GDM, Minervino AHH, Rodrigues AC, Teixeira MMG. *Trypanosoma vivax* in water buffalo of the Venezuelan Llanos: An unusual outbreak of wasting disease in an endemic area of typically asymptomatic infections. Vet Parasitol. 2016; 230:49-55. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.10.013
- Gardiner PR. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. Adv Parasitol. 1989;28:229-317. DOI: 10.1016/s0065-308x(08)60334-6.
- Germano PHV, Edler GEC, Da Silva AA, Lopes LO. Prevalência de *Trypanosoma vivax* em bovinos no município de Patos de Minas/MG. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. 15, 2017. Foz do Iguaçu. Rev Acad Ciênc Anim. 2017;15(2):S433-434.
- George JW, Snipes J, Lane VM. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. Vet Clin Pathol. 2010; 39:138–148. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2009.00208.x
- Gibson W. Livestock Trypanosomoses and their Vectors in Latin America. By M. Desquesnes, pp. 192. CIRAD/EMVT OIE (World Organisation for Animal Health), France, 2004. ISBN 92 9044 634 X. Book Review. Parasitology, 2005;131(1), 50-50. DOI:10.1017/S0031182005007870
- Gonzatti, M.I., González-Baradat, B., Aso, P.M., Reyna-Bello, A., 2014. *Trypanosoma (Duttonella) vivax* and typanosomosis in latin america: secadera/Huequera/Cacho hueco. In:

- Magez, S., Radwanska, M. (Eds.), *Trypanosomes and Trypanosomiasis*. Springer Wien Heidelberg, New York Dordrecht London, pp. 261–285.
- Greenhalgh D, Diekmann O, de Jong MC. Subcritical endemic steady states in mathematical models for animal infections with incomplete immunity. *Math Biosci*. 2000 May;165(1):1-25. DOI: 10.1016/s0025-5564(00)00012-2
- Guedes RLM, Rodrigues CMF, Coatnoan N, Cosson A, Cadioli FA, Garcia HA, Gerber AL, Machado RZ, Minoprio PMC, Teixeira MMG, de Vasconcelos ATR. A comparative in silico linear B-cell epitope prediction and characterization for South American and African *Trypanosoma vivax* strains. *Genomics*. 2019 May;111(3):407-417. DOI: 10.1016/j.ygeno.2018.02.017.
- Guedes Junior DS, Araújo FR, Silva FJM, Rangel CP, Neto JDB, Fonseca, AH. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marnigale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle, from the northeastern region of the state of Pará, Brazil. *Brazil J Vet Parasitol*. 2008;17(2):105-109. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612008000200008>
- Guerra RMSNC, Júnior ABE, Santos HP, Abreu-Silva AL, Santos ACG. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. *Cienc Rural*. 2008;38(3):833-835. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000300041>
- Guerra NR, Monteiro MFM, Sandes HMM, Da Cruz NLN, Ramos CAN, Santana VLA, De Souza MMA, Alves LC. Detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos através do teste de Imunofluorescência indireta. *Pes Vet Bras*. 2013;33(12):1423-1426. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100736X2013001200005>
- Hajihassani A, Maroufi S, Esmailnejad B, Khorram H, Tavassoli M, Dalir-Naghadeh B, Samiei A. Hemolytic anemia associated with *Trypanosoma theileri* in a cow from Kurdistan province, West of Iran. *Vet Res Forum*. 2020;11(2):191-193. DOI: 10.30466/vrf.2019.103834.2465
- Hamilton PB, Stevens JR, Gidley J, Holz P, Gibson WC. A new lineage of trypanosomes from Australian vertebrates and terrestrial bloodsucking leeches (Haemadipsidae). *Int J Parasitol*.

2005; 35:431–443. DOI: 10.1016/j.ijpara.2004.12.005

Hamilton PB, Adams ER, Malele II, Gibson WC. A novel, high-throughput technique for species identification reveals a new species of tsetse-transmitted trypanosome related to the *Trypanosoma brucei* subgenus, Trypanosozoon. Infect Genet Evol. 2008;8(1):26-33. DOI: 10.1016/j.meegid.2007.09.003

Hoare, C.A. Morphological and Taxonomic Studies on Mammalian Trypanosomes. X. Revision of the Systematics. J Protozool. 1964; 11(2): 200-207. DOI: 10.1111/j.1550-7408.1964.tb01741.x

Hoare, C.A. The Trypanosomes of Mammals – A Zoological monograph. Blackwell Scientific Publications. Oxford and Edinburgh, UK. 1972. ISBN 0632082003.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da Pecuária Municipal, Rio de Janeiro, 2019; 47:1-16.

Koether K, Albuquerque AL, Zakia LS, Rodrigues FP, Takahira RK, Munhoz AK, Oliveira-Filho JP, Borges AS. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos leiteiros no estado de São Paulo. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2017, Foz do Iguaçu. Rev Acad Ciênc Anim. 2017; Supl 2, 15(2):S565-566.

Kraft W, Dürr UM. Clinical laboratory diagnostics in veterinary medicine, 6th ed. Schattauer, Stuttgart, Germany. 2005.

Lanham SM, Miles MA, Shaw JJ, Lainson R. *Trypanosoma vivax* in water buffalo (*Bubalus bubalis*) of the Amazon basin and the diagnosis of subpatent infection by anion exchange separation. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1981; 75(3):471-472. DOI: [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(81\)90124-3](https://doi.org/10.1016/0035-9203(81)90124-3)

Linhares GFC, Filho FCD, Fernandes PR, Duarte SC. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). Ci Anim Bras. 2006;7(4):455-460. DOI:10.5216/cab.v7i4.876

Lopes STP, Prado BS, Martins GHC, Beserra HEA, Filho MACS, Evangelista LSM, Cardoso JFS, Mineiro ALBB, Souza JAT. *Trypanosoma vivax* in Dairy Cattle. Acta Sci Vet. 2018;46(1):287. DOI: <https://doi.org/10.22456/1679-9216.86772>

- Madruga CR, Araújo FR, Cavalcante-Goes G, Martins C, Pfeifer IN, Ribeiro LR, Kessler RH, Soares CO, Miguita M, Melo EPS, Almeida RFC, Lima Jr MMSC. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. Mem Inst Oswaldo Cruz; 2006;101(7):801-807. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000700016>
- Mahoney DF, Ross DR. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. Aust Vet J. 1972; 48:292-298. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1972.tb05160.x
- Martins CF, Madruga CR, Koller WW, Araújo FR, Soares CO, Kessler RH, Melo ESP, Rios LR, Almeida RCF, Lima JR MSC, Barros ATM, Marques LC. *Trypanosoma vivax* infection dynamics in a cattle herd maintained in a transition area between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brazil. Pesq Vet Bras. 2008;28(1):51-56. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2008000100008>
- Masake RA. The pathogenesis of infection with *Trypanosoma vivax* in goats and cattle. Vet Rec. 1980;107(24):551-557. DOI: 10.1136/vr.107.24.551
- Maslov DA, Lukes J, Jirku M, Simpson L, 1996. Phylogeny of trypanosomes as inferred from the small and large subunit rRNAs: implications for the evolution of parasitism in the trypanosomatid protozoa. Mol Biochem Parasitol. 1996; 75:197–205. DOI: 10.1016/0166-6851(95)02526-x
- Keeling MJ & Rohani P. Modeling Infectious Diseases in humans and animals. Princeton University Press, United Kingdom 2008.
- McKenna SL, Dohoo IR. Using and interpreting diagnostic tests. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2006 Mar;22(1):195-205. DOI: 10.1016/j.cvfa.2005.12.006.
- Mello VVC, Ramos IAS, Herrera HM, Mendes NS, Calchi AC, Campos JBV, Macedo GC, Alves JVA, Machado RZ, André MR. Occurrence and genetic diversity of hemoplasmas in beef cattle from the Brazilian Pantanal, an endemic area for bovine trypanosomiasis in South America. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2019;66:101337. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101337>
- Melo SA, Barros ACE, Costa FB, Neta AVC, Guerra RMNC, Abreu-Silva AL. Bovine

- Trypanosomiasis na Emerging Disease in Maranhão State-Brazil. *Vet Borne Zoonotic Dis*; 2011;11(7):853-856. DOI: 10.1089/vbz.2010.0107
- Meneses RM. Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011: Soroprevalência e fatores de risco. 2016. 61. Tese. Escola Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2016.
- Monzón CM, Mancebo AO, Giménez JN, Russo AM. Primera Descripción de *Trypanosoma vivax* em Argentina. *Vet Arg*. 2008;25(247):492-498.
- Moreira MF, Santos MP, Montes PC, Ribas JR. Primeiro relato de surto por *Trypanosoma vivax* em bovinos no estado da Bahia, Brasil. In: 2º ENCONTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA VETERINÁRIA, 2015, São Paulo. *Biológico*. 2015;77(1):11-64.
- Murray M, Murray PK, McIntyre WIM. An improved parasitological technique for the diagnosis of african trypanosomiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1977;71(4):325-326. DOI: 10.1016/0035-9203(77)90110-9
- Nantulya VM, Musoke AJ, Moloo SK. Apparent exhaustion of the variable antigen repertoires of *Trypanosoma vivax* in infected cattle. *Infect Immun*. 1986;54(2):444-7. DOI: 10.1128/iai.54.2.444-447.1986.
- Nunes VLB, Da Silva RP, Takeda GKF, Espindola MA, Cavalheiros MEM. Ocorrência de tripanossomos em bovinos na região de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Nota Prévia. Rev Fac Med Vet Zootec*. 1983;20(2):183. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.2318-3659.v20i2p183>
- Ono MSB, Souto PC, Cruz JALO, Guerra NR, Guimarães JA, Dantas AC, Alves LC, Rizzo H. Surto de *Trypanosoma vivax* em rebanhos bovinos na Zona da Mata do estado de Pernambuco. *Medicina Veterinária (UFRPE)*. 2017;11(2):96-101. DOI:10.26605/medvet-n2-1737
- Otte MJ, Abuabara JY. Transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. *Acta Trop*. 1991;49(1):73-76. DOI: 10.1016/0001-706x(91)90033-g
- Pacheco TA, Marcili A, Da Costa AP, Witter R, Melo ALT, Boas RV, Chitarra CS, Dutra V,

- Nakazato L, Pacheco RC. Genetic diversity and molecular survey of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* in cattle in Brazil's western Amazon region. *Braz J Vet Parasitol.* 2018;27(4):579-583. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180049>
- Paiva F, De Lemos RAA, Oshiro ET, Salvador SC, Nakazato L. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos no estado de Mato Grosso do Sul. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 1997;6(2):349.
- Paiva F, Lemos RAA; Nakazato L, Mori AE, Brum KB, Bernardo KC *Trypanosoma vivax* em bovinos no pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I - acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. *Braz J Vet Parasitol.* 2000a;9(2):135-141.
- Paiva F, De Lemos RAA, Nakazato L, Brum KB, Bernardo KC, Madruga CR, Schenk MA. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: II – Inoculação experimental. *Braz J Vet Parasitol.* 2000b;9(2):143-148.
- Pereira LJ, Abreu ACVV. Ocorrência de tripanosomas em bovinos e ovinos na região amazônica. *Pesq Agropec Bras.* 1978;13(3):17-21.
- Pereira HD, Simões SVD, Souza FAL, Silveira JAG, Ribeiro MFB, Cadioli FA, Sampaio PH. Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico da infecção por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino no estado do Maranhão. *Pesq Vet Bras.* 2018;38(5):896-901. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5303>
- Pérez HAG, Rodrigues CMF, Pivat IHV, Fuzato ACR, Camargo EP, Minervino AHH, Teixeira MMG. High *Trypanosoma vivax* infection rates in water buffalo and cattle in the Brazilian Lower Amazon. *Parasitol Int.* 2020;79:102162. DOI: 10.1016/j.parint.2020.102162
- Pimentel DS, Ramos CAN, Ramos RAN, Araújo FR, Borba ML, Faustino MAG, Alves LC. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. *Vet Parasitol.* 2012;185:286-289. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.10.019
- Raymond HL, Rousseau F. Abundance of horse flies (Diptera, Tabanidae) and reactions of cattle in a traditional farm of French Guiana. *Acta Oecologica* 1987.8, 125–134
- Ramos IAS, De Mello VVC, Mendes NS, Zanatto DCS, Campos JBV, Alves JVA, Macedo GC, Herrera HM, Labruna MB, Pereira GT, Machado RZ, André MR. Serological occurrence

- for tick-borne agents in beef cattle in the Brazilian Pantanal. *Braz J Vet Parasitol.* 2020;29(1): e014919. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120200007>
- Reis MO, Souza FR, Albuquerque AS, Monteiro F, Oliveira LFS, Raymundo DL, Wouters F, Wouters ATB, Peconick, AP, Varaschin MS. Epizootic Infection by *Trypanosoma vivax* in Cattle from the State of Minas Gerais, Brazil. *Korean J Parasitol.* 2019;57(2)191-195. DOI: 10.3347/kjp.2019.57.2.191
- Rodrigues AC, Campaner M, Takata CSA, Dell' Porto A, Milder RV, Takeda GF, Teixeira MMG. Brazilian isolates of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: diagnosis and differentiation of isolates from cattle and water buffalo based on biological characteristics and randomly amplified DNA sequences. *Vet Parasitol.* 2003;116:185-207. DOI: 10.1016/s0304-4017(03)00236-x
- Rodrigues AC, Paiva F, Campaner M, Stevens JR, Noyes HA, Teixeira MMG. Phylogeny of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* and related trypanosomes reveals lineages of isolates associated with artiodactyl hosts diverging on SSU and ITS ribosomal sequences. *Parasitology.* 2006;132(2)215-224. DOI: 10.1017/S0031182005008929
- Rodrigues AC, Garcia HA, Batista JS, Minervino AHH, Gões-Cavalcante G, Da Silva FM, Ferreira RC, Campaner M, Paiva F, Teixeira MMG. Characterization of spliced leader genes of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: phylogeographical analysis of Brazilian isolates from cattle supports spatial clustering of genotypes and parity with ribosomal markers. *Parasitology.* 2010;137(1):111-122. DOI: 10.1017/S0031182009991053
- Rodrigues CMF, Batista JS, Lima JM, Freitas FJC, Barros IO, Garcia HA, Rodrigues AC, Camargo EP, Teixeira MMG. Field and experimental symptomless infections support wandering donkeys as healthy carriers of *Trypanosoma vivax* in the Brazilian Semiarid, a region of outbreaks of high mortality in cattle and sheep. *Parasit. Vectors.* 2015;8(564):1-11. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1169-7>
- Santos VR. Ocorrência de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) em bovinos procedentes do estado de Alagoas, Brasil. 2013. 25. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2013.

- Schmith R, Moreira W, Vassoler JM, Vassoler JC, Souza JEGB, De Faria, AGA, Almeida L, Teixeira MC, Marcolongo-Pereira C. *Trypanosoma vivax* Epizootic Infection in Cattle from Espírito Santo State, Brazil. *Adv Anim Vet Sci.* 2020;8(6):629-632. DOI:10.17582/journal.aavs/2020/8.6.629.632
- Schenk MAM, Mendonça CL, Madruga CR, Kohayagawa A, Araújo FR. Avaliação clínico-laboratorial de bovinos nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. *Pesqui Vet Bras* 2001; 21(4): 157-161. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2001000400006>.
- Serra Freire NM, Silva NM, Muniz JA. Prevalência de *Trypanosoma vivax* em *Bubalus bubalis* no Município de Bélem, Estados do Pará. *Atas da Sociedade de Biologia.* 1981a; 22:35-36.
- Serra Freire NM. Oiapoque – outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. *Rev Bras Med Vet.* 1981b; 4(4):30-31.
- Shaw JJ, Lainson R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. *Ann Trop Med Parasitol.* 1972;66(1):25-32. DOI: 10.1080/00034983.1972.11686794
- Silva RAMS, Da Silva JA, Schneider RC, Freitas J, Mesquita D, Mesquita T, Ramirez L, Dávila AMR, Pereira MEB. Outbreak of Trypanosomiasis Due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in Bovines of the Pantanal, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996; 91(5):561-562. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02761996000500005>
- Silva RAMS, Ramirez L, Souza SS, Ortiz AG, Pereira SR, Dávila AMR. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. *Vet Parasitol.* 1999;85(1):87-93. DOI: 10.1016/s0304-4017(99)00081-3
- Silveira JM, De Melo HJH, Paiva F, Ribeiro OC. *Trypanosoma* em bovinos no estado de Mato Grosso do Sul. *Pesq Agropec Bras.* 1984;19(11):1433-1436.
- Smith RD. *Veterinary Clinical Epidemiology - From Patient to Population.* Fourth Edition. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL USA. 2020. ISBN-13 978-1138392984.
- Squarre D, Hayashida K, Gaithuma A, Chambaro H, Kawai N, Moonga L, Namangala B, Sugimoto C, Yamagishi J. Diversity of trypanosomes in wildlife of the Kafue ecosystem, Zambia. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2020 Apr 23;12:34-41. DOI:

10.1016/j.ijppaw.2020.04.005.

Theurer ME, White BJ, Renter DG. Optimizing Feedlot Diagnostic Testing Strategies Using Test Characteristics, Disease Prevalence, and Relative Costs of Misdiagnosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2015 Nov;31(3):483-93, viii. DOI: 10.1016/j.cvfa.2015.05.002.

Thrusfield MV, Christley R. *Veterinary epidemiology*. Fourth edition. Hoboken, NJ, Wiley 2018. ISBN 9781118280263

Uzoigwe NR. Self-cure in zebu calves experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Vet Parasitol.* 1986. 22:141-146. DOI: 10.1016/0304-4017(86)90016-6

van den Driessche P, Watmough J. Reproduction numbers and sub-threshold endemic equilibria for compartmental models of disease transmission. *Math Biosci.* 2002; 180:29-48. DOI: 10.1016/s0025-5564(02)00108-6.

Ventura RM, Takata CSA, Silva RAMS, Nunes VL, Takeda GF, Teixeira MMG. Molecular and morphological studies of Brazilian *Trypanosoma evansi* stocks: the total absence of kDNA in trypanosomes from both laboratory stocks and naturally infected domestic and wild mammals. *J Parasitol.* 2000; 86(6):1289-1298. DOI: 10.1645/0022-3395(2000)086[1289:MAMSOB]2.0.CO;2

Vera-Ku M, Meza-González G, Carlier Y, Truyens C, Gamboa-León R. Comparison of methodologies for detecting *Trypanosoma cruzi* parasites by microscopic observation of microhematocrit capillary tubes. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2019; 27;52:e20180505. DOI: 10.1590/0037-8682-0505-2018.

Vieira OL, De Macedo LO, Santos MAB, Silva JABA, De Mendonça CL, Faustino MAG, Ramos CAN, Alves LC, Ramos RAN, De Carvalho GA. Detection and molecular characterization of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* in dairy cattle in the state of Sergipe. Northeastern Brazil. *Braz J Vet Parasitol.* 2017;26(4):516-520. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017048>

Woo PT. The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. *Can J Zool.* 1969 Sep;47(5):921-3. DOI: 10.1139/z69-150.

Wood D, Quiroz-Rocha GF. Normal hematology of cattle. In: Schalm's veterinary hematology,

ed. Weiss DJ, Wardrop KJ, 6th ed., 2010, pp. 829–835. Wiley, Ames, IA.

Zanatto DCS, Gatto IRH, Labruna MB, Jusi MMG, Samara SI, Machado RZ, André MR. *Coxiella burnetii* associated with BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus), BoHV (Bovine Herpesvirus), *Leptospira* spp., *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma vivax* in reproductive disorders in cattle. Braz J Vet Parasitol. 2019; 28(2):245-247. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612019032>

5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este estudo demonstrou o real impacto da infecção por *T. vivax* em bovinos no Pantanal Sul-mato-grossense, no qual se encontra em equilíbrio endêmico. Além disso, a elevada prevalência de *T. theileri* deve ser considerada e novos estudos devem ser realizados para esta espécie para determinar a importância epidemiológica desse parasita em rebanhos. Uma questão digno de nota, é que todos os animais infectados estavam sadios e sem anemia, isso é importante, pois dentro das diversas enfermidades que podem acometer os bovinos, a chance de alguma dessas duas espécies de provocar tripanosomíase é praticamente nula nas condições pantaneiras, levando ainda em consideração que eles estavam sob condições de manejo nutricional adequados para as categorias e em criação extensiva.

O uso do Teste de Microhematócrito, ELISA e PCR-FFLB em associação, foram ferramentas de diagnóstico importantes para a determinação da situação epidemiológica de *T. vivax*.

6. IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E/OU INOVAÇÃO

Não houve impacto econômico, uma vez que foi demonstrado que nos rebanhos bovinos presentes do Pantanal não ocorre tripanosomíase. Além disso, essa população pode ser resistente a infecções devido a presença de mais da metade dos rebanhos com títulos de anticorpos para *T. vivax*. Se existe alguma perda econômica em bovinos por esses parasitas, é praticamente nula. O que se deve levar em consideração é o transporte desses animais para alguma região livre ou não diagnosticada com a presença de *T. vivax*.