

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**TRIPANOSSOMOSE BOVINA EM MINAS GERAIS, 2011:
SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO**

RODRIGO MELO MENESES

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2016**

Rodrigo Melo Meneses

**TRIPANOSSOMOSE BOVINA EM MINAS GERAIS, 2011:
SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO**

Tese apresentada à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau de Doutor
em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina e Cirurgia
Veterinárias

Orientador: Elias Jorge Facury Filho

Co-orientadores: Antônio Último de Carvalho
Helton Mattana Saturnino

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2016**

M543t Meneses, Rodrigo Melo, 1986-
Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011: soroprevalência e fatores de
risco / Rodrigo Melo Meneses. – 2016.
61 p. : il.

Orientador: Elias Jorge Facury Filho

Co-orientadores: Antônio Último de Carvalho, Helton Mattana Saturnino

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1. Bovino – Doenças – Diagnóstico – Teses. 2. Tripanossomose em bovino –
Teses. 3. Epidemiologia – Teses. I. Facury Filho, Elias Jorge. II. Carvalho, Antônio
Último de. III. Saturnino, Helton Mattana. IV. Universidade Federal de Minas Gerais.
Escola de Veterinária. V. Título.

CDD – 636.208 969 3

FOLHA DE APROVAÇÃO

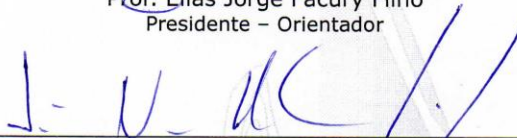
RODRIGO MELO MENESES

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração em MEDICINA E CIRURGIA VETERINÁRIAS.

Aprovada em 05 de Maio de 2016, pela banca constituída pelos membros:




Prof. Elias Jorge Facury Filho
Presidente - Orientador




Prof. José Dantas Ribeiro Filho
Universidade Federal de Viçosa - UFV



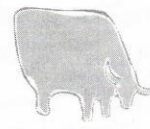
Dr. Arildo Pinto da Cunha
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA



Prof. Andrey Pereira Lage
Escola de Veterinária - UFMG



Prof. Júlia Angélica Gonçalves da Silveira
Instituto de Ciências Biológicas - ICB



*Aos meus pais, irmã, avó e noiva
Pessoas fundamentais na minha vida
DEDICO.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me mostrar que as dificuldades são para serem vencidas e quando algo dá “errado” é porque existem oportunidades melhores à frente que serão conquistadas.

Aos meus pais, Sérgio e Jussara, pelo amor, carinho, dedicação e luta incessante para que eu chegasse até aqui; e à minha irmã, Luciana, pela amizade.

Ao meu avô, José Alves (*in memoriam*), pelo grande incentivo para que eu participasse dessa caminhada, à minha avó, Maria Severiana, pelo amor, carinho e predileção, e à minha bisavó, Maria Helena, pelo exemplo de vida.

À minha noiva, Anna Luiza, por me permitir amar e ser amado, por me incentivar e estar ao meu lado a qualquer hora.

Aos demais familiares pelo apoio.

Aos professores da Escola de Veterinária da UFMG que contribuíram para a minha formação, o meu orientador Elias Facury, os co-orientadores Antônio Último e Helton, Múcio Ribeiro, Júlia Silveira, Lívio Molina, Andrey, Valentin, Fabíola, Paulo Paes, Ronaldo Braga Reis e Sandra Gesteira pelos ensinamentos, em especial, aos prof. Elias e Último, pelo exemplo de pessoa, pela amizade, carisma, solicitude, paciência, dedicação e exemplo profissional e ao prof. Andrey pela disponibilidade do material e contribuição para este trabalho.

Aos amigos da Família Ruminantes, em especial, José Zambrano, Ronaldo Martins, Layanne Duarte e Tiago Facury pela colaboração mútua e companhia durante as horas de trabalho e lazer.

Às amigas do Laboratório de Protozoologia Veterinária, Bruna e Letícia, pela colaboração durante as análises laboratoriais.

Ao Jonata, pela colaboração na seleção das amostras e análises estatísticas.

Aos velhos amigos, que sempre estiveram na torcida para a chegada deste momento.

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado e ao CNPq, FAPEMIG e FEPE pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS	9
RESUMO	10
ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	13
CAPÍTULO 1	14
REVISÃO DE LITERATURA	14
1. Principais métodos de diagnóstico para tripanossomose bovina	14
1.1. Métodos parasitológicos.....	14
1.1.1. Exames diretos.....	14
1.1.2. Exames pós-centrifugação.....	14
1.2. Métodos sorológicos.....	15
1.2.1. Reação de imunofluorescência indireta (RIFI).....	15
1.2.2. Ensaio imunossorvente ligado a enzima (ELISA).....	15
1.3. Métodos moleculares.....	16
2. Aspectos epidemiológicos da tripanossomose bovina na África Subsaariana	16
3. Aspectos epidemiológicos da tripanossomose bovina na América Latina	25
4. Aspectos epidemiológico da tripanossomose bovina no Brasil	31
CAPÍTULO 2	37
SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA A TRIPANOSSOMOSE BOVINA EM MINAS GERAIS	37
Resumo	37
Introdução	37
Material e Métodos	39
Área e população do estudo.....	39
Seleção amostral.....	39
Método diagnóstico.....	40
Cálculo da prevalência dos rebanhos.....	40
Análise de fatores de risco.....	41
Análise espacial das propriedades para tripanossomose bovina.....	42
Resultados	42
Discussão	44
Conclusões	47
Agradecimentos	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Prevalência da tripanossomose bovina na última década em diferentes regiões de países do Oeste (África Ocidental) e Centro-Norte da África e os testes diagnósticos utilizados.....	17
Tabela 2.	Prevalência da tripanossomose bovina na última década em diferentes regiões de países do Leste Africano (África Oriental) e os testes diagnósticos utilizados	18
Tabela 3.	Prevalências de tripanossomose bovina em países da América Latina de acordo com os respectivos testes diagnósticos e regiões.....	26
Tabela 4.	Prevalência da tripanossomose bovina em alguns estados do Brasil e os respectivos testes diagnósticos.....	31
Tabela 5.	Dados censitários de rebanhos bovinos com atividade produtiva do ano de 2013 de acordo com o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), número de rebanhos amostrados e o peso dos rebanhos amostrados em cada estrato.....	41
Tabela 6.	Variáveis com $P \leq 0,20$ na análise univariada (teste de χ^2) que foram submetidas à regressão logística multivariada.....	42
Tabela 7.	Prevalência de rebanhos bovinos soro reagentes para <i>Trypanossoma vivax</i> nos sete estratos e no estado de Minas Gerais, 2011.....	43
Tabela 8.	Resultado da análise de regressão logística multivariada para associação aos fatores de risco com a tripanossomose bovina nos rebanhos do estado de Minas Gerais, 2011.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Localização geográfica dos países africanos que tiveram estudos de prevalência para tripanossomose bovina revisados na última década.....	19
Figura 2.	Mapa do estado de Minas Gerais e os estratos adotados no presente estudo.....	39
Figura 3.	Distribuição espacial dos rebanhos soropositivos e soronegativos no estado de Minas Gerais e nos respectivos estratos.....	43
Figura 4.	Diferenças entre funções k para rebanhos soropositivos e soronegativos para <i>Trypanosoma vivax</i> no estado de Minas Gerais, 2011 (linhas pontilhadas representando os limites inferior e superior do envelope; linha contínua representando o padrão espacial observado).....	44

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECC	Escore de condição corporal
ELISA	<i>Enzyme-linked immunoabsorvent assay</i>
EV	Escola de Veterinária
FAO	Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
LAMP	<i>Loop-mediated isothermal amplification</i>
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PBS	Tampão fosfato-salino
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
TCH	Técnica de centrifugação de hematócrito
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VG	Volume globular
WASH	<i>West African Shortorn</i>

RESUMO

A tripanossomose bovina é responsável por grandes perdas econômicas na África e na América Latina. Nas Américas, *Trypanosoma vivax* é o agente causador da doença em bovinos, sendo transmitido mecanicamente por insetos hematófagos e fômites. Sua origem no continente americano ocorreu através da importação de animais do Oeste da África e no Brasil os primeiros relatos foram na região Norte com posterior disseminação para o Pantanal e na última década surtos foram relatados em diversas regiões do país, inclusive em Minas Gerais. Diante disso, objetivou-se determinar a prevalência sorológica da tripanossomose bovina e avaliar os fatores de risco associados à doença no estado de Minas Gerais. Em 2011, realizou-se um estudo transversal em Minas Gerais, no qual o estado foi estratificado em sete regiões de acordo com as características agroprodutivas: 1. Noroeste, Norte e Nordeste; 2. Leste; 3. Central; 4. Zona da Mata; 5. Sul e Sudoeste; 6. Alto Paranaíba; 7. Triângulo Mineiro. Ao todo, amostrou-se aleatoriamente 2185 propriedades, das quais amostras de soro de um animal provenientes de cada rebanho foram submetidas à reação de imunofluorescência indireta para a detecção de anticorpos anti-*T. vivax*. A soroprevalência das propriedades para tripanossomose bovina no estado de Minas Gerais foi 2,38% (95% IC: 1,68-3,08%). Entre os estratos a prevalência variou de 0,69% na região Leste (estrato 2) a 3,7% nas regiões Sul e Sudoeste (estrato 5), porém não houve diferença significativa. A análise de fator de risco indicou que rebanhos nos quais os proprietários alegaram realizar o teste de brucelose e comprar animais de comerciantes de gado tiveram maior chance de ocorrência da doença, com razão de chance de 2,75 (95% IC: 1,37-5,51) e 3,36 (95% IC: 1,31-8,59), respectivamente. Não houve a presença de aglomerados entre as propriedades que apresentaram animais soro reagentes. O presente estudo é o primeiro a revelar a prevalência da tripanossomose bovina no estado de Minas Gerais. Os resultados permitiram observar que a prevalência foi baixa, no entanto a doença já se encontrava distribuída homogeneamente em todo o estado. Adicionalmente, realizar o teste de brucelose exerce influência indireta sobre a ocorrência da doença, enquanto comprar animais de comerciantes de gado tem impacto direto sobre a ocorrência da tripanossomose bovina em Minas Gerais, exigindo educação sanitária para os proprietários e utilização de medidas de biossegurança nas propriedades.

Palavras-chave: *Trypanosoma vivax*, bovino, epidemiologia, diagnóstico, controle.

ABSTRACT

Bovine trypanosomosis is responsible for great economic losses in Africa and Latin America. In the Americas, *Trypanosoma vivax* is the mainly cause for the disease in cattle, being mechanically transmitted by blood-sucking insects and fomites. The agents of the disease were brought to South America for the first time, from Africa, through imported animals, characterizing its origin in the Americas. The first report was emitted in the north of Brazil, with subsequent spread to the Pantanal and, in the last decade, outbreaks were reported in several regions of the country, including Minas Gerais. The research objective was to determine the serological prevalence of bovine trypanosomosis and identify risk factors associated with the disease in Minas Gerais state. In 2011, a cross sectional study was performed in Minas Gerais, in which the state was divided into seven regions according to agricultural production characteristics: 1. Northwest, North and Northeast; 2. Eastern; 3. Central; 4. Forest Zone; 5. South and Southwest; 6. Alto Paranaíba; 7. Triângulo Mineiro. Among all regions, 2185 properties were sampled randomly, of which serum samples were collected and subjected to indirect immunofluorescence assay for the detection of anti-T. *vivax*. The prevalence for bovine trypanosomosis on properties in Minas Gerais state was 2.38% (95% CI: 1.68 to 3.08%). Among strata the prevalence ranged from 0.69% in the eastern region (stratum 2) to 3.7% in the South and Southwest (stratum 5), but there was no significant difference. Risk factor analysis indicated that herds in which the owners claimed to perform brucellosis test and to buy animals from cattle traders, had greater chance of occurrence of the disease, with an odds ratio of 2.75 (95% CI: 1.37 to 5.51) and 3.36 (95% CI: 1.31 to 8.59), respectively. There was no presence of agglomerated between farms with animal serum reagents. This study is the first to reveal the prevalence of bovine trypanosomosis in Minas Gerais state. Results showed that the prevalence was low, however the disease was already homogeneously distributed throughout the state. Additionally, perform brucellosis test exerts indirect influence on the occurrence of the disease, while buying animals from livestock dealers have a direct impact on the occurrence of bovine trypanosomosis in Minas Gerais, requiring health education for owners and use of biosecurity measures in the properties.

Keywords: *Trypanosoma vivax*, cattle, epidemiology, diagnosis, control.

INTRODUÇÃO

A tripanossomose bovina consiste em uma doença causada por um grupo de parasitos protozoários pertencentes à família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida, seção Salivaria e gênero *Trypanosoma*. Esses protozoários afetam não só bovinos, mas também outros mamíferos domésticos, silvestres, selvagens, assim como o ser humano e causam perdas econômicas significativas, especialmente em países da África subsaariana e da América Latina (Gonzatti et al., 2014; Dagnachew e Bezie, 2015). Cerca de três milhões de bovinos são mortos e aproximadamente 35 milhões de doses de medicamentos contra o parasito são administrados anualmente na África, com perdas econômicas de até 4,5 bilhões de dólares por ano (FAO, 2004; Schofield e Kabayo, 2008). Na Colômbia, a tripanossomose bovina foi considerada a terceira doença parasitária de maior importância, ficando atrás apenas das doenças transmitidas por carrapatos e da fasciolose (Wells, 1982). Na região do Pantanal do Brasil e das planícies baixas da Bolívia, estimou-se um custo equivalente de 17% do valor total do animal (Seidl et al., 1999), podendo exceder \$160 milhões (Dávila e Silva, 2000). No estado de Minas Gerais, Abrão et al. (2009) relataram uma redução de 27% na produção de leite e queda de 45% na taxa de prenhez em um surto da doença; e no estado de Goiás, 25% de queda na produção de leite foi observada quatro dias após o início de um surto (Barbosa et al., 2015).

Três diferentes espécies de tripanossomas que acometem os bovinos, *T. vivax*, *T. congolense* e *T. brucei*, são consideradas as principais causadoras de doença nesses animais e de maior importância econômica (Magona et al., 2008; Angwech et al., 2015). Todas elas são transmitidas biologicamente por moscas tsé-tsé (*Glossina* spp.) no continente africano (Ford, 2007), no entanto, *T. vivax* também pode ser transmitido mecanicamente por outros insetos hematófagos (Cherenet et al., 2006; Sinshaw et al., 2006; Alingu et al., 2014; Angwech et al., 2015), o que tem permitido que essa espécie seja encontrada em áreas livres de tsé-tsé na África (Fikru et al., 2012) e em países da América Central e do Sul (Dávila e Silva, 2000; Magona et al., 2008), onde as moscas do gênero *Glossina* não estão presentes. Em adição, a transmissão por fômites contaminados pode constituir uma forma importante de transmissão dos parasitos (Dávila e Silva, 2000; Jones e Dávila, 2001; Quispe et al., 2003; Agudo et al., 2009; Bastos et al., 2013; Frange, 2013; Barbosa et al., 2015).

Nas Américas, *T. vivax* foi introduzido pela importação de bovinos do Oeste da África nos séculos XVII e XVIII (FAO, 2006), sendo geneticamente similar a cepas da Nigéria (Oeste Africano) e da Venezuela (Osório et al., 2008). No entanto, ele difere na diversidade dos seus antígenos de superfície e não são capazes de infectar tsé-tsé e crescer *in vitro* (Dirie et al., 1993), assim como é geneticamente distante dos isolados encontrados no Leste Africano (Quênia) (Osório et al., 2008).

A doença pode ocorrer com intensidade variada, dependendo das cepas de tripanossomas envolvidas. No Oeste da África, as infecções por *T. vivax* são mais intensas e fatais. Contrariamente, *T. vivax* pode ser comumente encontrado na região Leste e Central da África causando doença discreta em bovinos. No entanto, síndromes hemorrágicas causadas por *T. vivax* ocasionalmente ocorrem na forma de surtos no Quênia (Mwongela et al., 1981), em Uganda (Magona et al., 2008) e em outros países da África (Assoku e Gardiner, 1989; Kimeto et al., 1990), provocando a morte de animais rapidamente. Nestes casos, há parasitemia alta e persistente, febre, anemia intensa, assim como hemorragia visceral e de mucosas, principalmente no trato gastrointestinal. Em regiões onde a mosca tsé-tsé não está presente, surtos sazonais podem ocorrer, nos quais as populações de tabanídeos e moscas hematófagas são influenciadas por diferenças na temperatura e umidade do ambiente (Dagnachew e Bezie, 2015).

O diagnóstico de *T. vivax* pode ser realizado de diversas formas, com variações na sensibilidade e especificidade dos testes, além de diferenças entre os métodos dependendo do estágio da doença. Usualmente, é feito por uma combinação entre o quadro clínico e técnicas

parasitológicas, sorológicas e moleculares. O diagnóstico clínico é baseado nos diversos sinais clínicos apresentados pelo animal, que são restritos à fase aguda da doença e podem ser confundidos com outras doenças parasitárias e bacterianas (Desquesnes, 2004; Osório et al., 2008; Gonzatti et al., 2014). Em geral, os métodos diagnósticos utilizados para identificar *T. vivax* a campo são os parasitológicos (Madruga, 2004; Gonzatti et al., 2014), apesar de apresentar sensibilidade dependente do estágio da doença (agudo ou crônico). Em quadros crônicos a sensibilidade é reduzida, porém é de valor diagnóstico durante a ocorrência de surtos (Desquesnes, 2004). Métodos sorológicos tem como principais técnicas a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) indireto (Silva et al., 2002; Gonzatti et al., 2014), sendo de grande importância para a identificação de situações epidemiológicas. Já os métodos moleculares permitem realizar um diagnóstico espécie-específico de infecções ativas por *Trypanosoma* spp. (Desquesnes, 2004).

As drogas consideradas efetivas no tratamento de infecção por *T. vivax* incluem aceturato de diminazeno e cloreto de isometamídio (Gonzatti et al., 2014). No entanto, o desenvolvimento de resistência é uma ameaça para o controle de tripanossomose (Stevenson et al., 2000; Desquesnes, 2004; Sow et al., 2012). Para o controle efetivo da doença, além do tratamento de animais infectados, a restrição do movimento de animais doentes, o monitoramento da distribuição e intensidade da doença, assim como o controle de vetores são fundamentais (Desquesnes e Dia, 2003; Mekuria e Gadissa et al., 2011; Enwenzor et al., 2012; Sow et al., 2013; Mbewe et al., 2015). Portanto, o diagnóstico da situação epidemiológica é fundamental para identificar a importância da doença dentro do contexto produtivo, amparando a tomada de decisões para o seu controle e avaliando a eficiência das medidas adotadas.

No Brasil, a doença foi primeiramente relatada em 1972, quando Shaw e Lainson referiram a ocorrência da doença em búfalos no Norte do país, apesar de evidência da tripanossomose bovina já existisse desde 1946, quando o médico veterinário José Lobato Boulhosa deu entrada na Defesa Animal do Ministério da Agricultura, registrando o achado de tripanossomas no sangue de duas vacas na microrregião Bragantina do estado do Pará (Shaw e Lainson, 1972). Na segunda metade da década de 90 a tripanossomose bovina foi diagnosticada na região do Pantanal (Silva et al., 1996; Paiva et al., 1997) e na última década, diversos relatos da doença tem sido divulgados em bovinos (Linhares et al., 2006; Batista et al., 2007; Batista et al., 2008; Carvalho et al., 2008; Guedes Júnior et al., 2008; Guerra et al., 2008; Martins et al., 2008; Silva et al., 2009; Cuglovici et al., 2010; Batista et al., 2012; Cadioli et al., 2012; Pimentel et al., 2012; Bastos et al., 2013; Frange, 2013; Barbosa et al., 2015), pequenos ruminantes (Batista et al., 2009) e equinos (Silva et al., 2011) em diversas regiões do país.

Em Minas Gerais, o primeiro diagnóstico foi realizado em 2007 na Escola de Veterinária da UFMG (Carvalho et al., 2008). Desde então, uma equipe da EV-UFMG tem diagnosticado rotineiramente quadros agudos da doença, com redução acentuada na produção de leite, ocorrência de vários abortos, animais com sinais nervosos, além de alta mortalidade em diversas regiões do estado, especialmente nos últimos três anos. Diante disso, surgiu a necessidade de averiguar a situação epidemiológica da tripanossomose bovina no estado de Minas Gerais e os fatores de risco a ela associados.

OBJETIVOS

Avaliar a soroprevalência da tripanossomose bovina e analisar fatores de risco associados à doença no estado de Minas Gerais.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1. Principais métodos de diagnóstico para tripanossomose bovina

1.1. Métodos parasitológicos

Tripanossomas podem ser detectados a partir de amostras de sangue, linfonodos, líquor, secreções genitais, esfregaço de órgãos, entre outros (Desquesnes, 2004). Em geral, o diagnóstico parasitológico é o método mais aplicado para identificar *T. vivax* no campo (Madruga, 2004; Gonzatti et al., 2014). A sensibilidade desses métodos depende do estágio da doença (aguda ou crônica), sendo bastante reduzida em quadros crônicos. No entanto, os métodos parasitológicos são valiosos durante a ocorrência de surtos (Desquesnes, 2004).

1.1.1. Exames diretos

Consiste na observação dos parasitas através de microscópio em amostras frescas ou fixadas. Nos casos de amostra de sangue fresco, deve-se executar o exame dentro de 2-4h após a coleta. O exame direto de um material fresco possui baixa sensibilidade, além de nem sempre ser possível a identificação da espécie do parasita com base na sua morfologia e motilidade (Desquesnes, 2004).

Esfregaço sanguíneo ou de material aspirado de linfonodo são amostras que permitem chegar a um diagnóstico definitivo (Desquesnes, 2004). Após serem fixados e corados, são avaliados em microscópio, e quando tripanossomas estão presentes, características referentes ao tamanho, forma do corpo, posição do núcleo e do cinetoplasto e grau de desenvolvimento da membrana ondulante e do flagelo são observadas para a identificação da espécie (Silva et al., 2002). Este teste possui boa especificidade, mas requer pelo menos 10^4 - 10^5 parasitas/mL, o que torna a sua sensibilidade muito baixa (Desquesnes, 2004), em torno de 10% (Botero, 1998, citado por Quispe et al., 2003). Uma variação do esfregaço sanguíneo é o esfregaço espesso (MacLennan, 1957), na qual a hemoglobina é eliminada através da lise das hemácias após imersão do esfregaço seco em água destilada e, em seguida, o esfregaço é novamente seco e corado, aumentando a sensibilidade, já que uma maior quantidade de sangue é colocado sobre a lâmina para a formação desse tipo de esfregaço.

1.1.2. Exames pós-centrifugação

A técnica de centrifugação de hematócrito - TCH (Woo, 1969), também conhecida como teste de Woo, consiste na centrifugação de sangue em tubos capilares durante cinco minutos a 13.000 rpm e, posteriormente, visualização microscópica da região da capa leucocitária. Esta técnica é a mais comum dentre os exames parasitológicos empregados (Madruga, 2004) por ser rápida e barata e, além disso, permite a observação de animais anêmicos (Desquesnes, 2004). Para a detecção de *T. vivax*, pelo menos 700 parasitas/mL de sangue é necessário (Desquesnes e Tresse, 1996), ou seja, é uma técnica de baixa sensibilidade, especialmente, na fase crônica da doença (Masake et al., 1994). Em animais infectados experimentalmente, Desquesnes (1997) observou sensibilidade desse teste de 68%.

O método de *buffy coat* (Murray et al., 1977) também é uma modificação da TCH e consiste na avaliação do material localizado na transição do plasma e da capa de leucócitos. Esse método possui sensibilidade inferior à TCH, porém tem a vantagem de poder observar as formas tripomastigotas na lâmina, mesmo após a não visualização de movimentos dos parasitas à TCH.

1.2. Métodos sorológicos

A detecção de anticorpos não informa se a infecção é ativa ou não, mas é uma ferramenta importante para avaliar a frequência de animais que se infectaram. Antígenos comuns às diversas espécies de *Trypanosoma* são utilizados, não representando métodos espécie-específicos (Desquesnes, 2004). Para *T. vivax*, o diagnóstico sorológico é frequentemente realizado por métodos indiretos de ELISA e imunofluorescência (Silva et al., 2002; Gonzatti et al., 2014). No entanto, é importante destacar, que o sistema imune necessita de duas semanas após a infecção para soroconversão, de forma que, se a infecção é recente, outros métodos, como os parasitológicos ou os moleculares são necessários. Caso contrário, o teste sorológico deve ser repetido, pelo menos, 15 dias depois.

1.2.1. Reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

Para a realização dessa reação é necessário inoculação de *T. vivax* em um animal para a obtenção do antígeno. Ao pico de parasitemia, sangue é coletado e esfregaços sanguíneos são realizados e fixados. O plasma ou o soro do animal suspeito é colocado sobre o esfregaço, lavado e, em seguida, um anticorpo anti-IgG bovino marcado por fluoresceína é adicionado. Então, sob luz ultravioleta observa-se a fluorescência nos casos positivos (Desquesnes, 2004).

A RIFI, além de fornecer dados referentes ao nível de exposição ao parasita, possibilita a identificação de áreas mais afetadas, tendo em vista que quanto maior a diluição que permite a visualização fluorescente, maior é o título de anticorpos do animal testado. Esta técnica possui relato de reações cruzadas entre *T. evansi* e *T. vivax*, além da interpretação ser subjetiva, especialmente em casos próximos ao ponto de corte (Ferenc et al., 1990). No entanto, antígenos de *T. vivax* não possuem reação cruzada com *Anaplasma marginale*, *Eperythrozoon* sp., *Babesia bigenina*, *B. bovis* e *Trypanosoma theileri*, podendo ser amplamente utilizado em países como o Brasil (Platt e Adams, 1976).

1.2.2. Ensaio imunossorvente ligado a enzima (ELISA)

O princípio do ELISA indireto consiste na preparação de um antígeno que é aderido a uma placa, onde serão colocados os soros a serem testados e, havendo anticorpo, uma ligação antígeno/anticorpo será formada, que será detectada pela adição de um conjugado (anti-IgG bovino ligado a uma enzima, usualmente, peroxidase). Na sequência, é adicionado um complexo formado pelo substrato da enzima (peróxido de hidrogênio – H₂O₂) e um cromógeno (ABTS para peroxidase), gerando uma reação colorida quando H₂O₂ é desdobrado (Desquesnes, 2004).

Os antígenos são usualmente obtidos através de sangue de roedores infectados experimentalmente ou por meio de cultura de tecidos (Rebenski et al., 1999) e a leitura é feita visualmente, por espectrofotometria (Ferenc et al., 1990) ou através de reação de quimioluminescência (Steuber et al., 1987). Antígenos brutos de *T. evansi* tem sido utilizados para detectar *T. vivax* devido à alta resposta cruzada e à fácil propagação de *T. evansi* em roedores para a produção dos antígenos (Suárez et al., 2009).

Em comparação com à RIFI, esta possui resultados melhores devido à sua excelente repetibilidade, baixo custo e facilidade para o processamento de muitas amostras, sendo indicada para pesquisas epidemiológicas (Ferenc et al., 1990; Madruga et al., 2006; Osório et al., 2008). No entanto, um problema é a padronização do antígeno, que usualmente é produzido por cada laboratório, o que torna a técnica variável. Ademais, a escolha do limite para positividade é arbitrária (Desquesnes, 2004), com padrões sendo desenvolvidos (Wright et al., 1993), inclusive no Brasil (Madruga et al., 2006).

Em geral, ELISA indireto possui especificidade razoável, sem reações cruzadas com *T. theileri* (Ferenc et al., 1990; Desquesnes e Gardiner, 1993), porém tem baixa especificidade entre os tripanossomas patogênicos (Ferenc et al., 1990). Contudo, em se tratando da sensibilidade, ela é satisfatória (por volta de 90%). Para um único lote de antígeno, a repetibilidade é muito boa, mas pode variar entre lotes e entre estirpes do parasito (Desquesnes, 2004).

Embora as reações cruzadas entre espécies de *Trypanosoma* dificultem o diagnóstico espécie-específico, para *T. vivax*, a sensibilidade utilizando ELISA indireto com antígeno homólogo e heterólogo (*T. evansi*) é similar (Desquesnes, 2004). Um ELISA com antígeno bruto de *T. vivax* desenvolvido por Madruga et al. (2006) de um isolado brasileiro apresentou sensibilidade e especificidade de 97,6% e 96,9%, respectivamente. Adicionalmente, entre três bezerros inoculados com *T. evansi* para avaliar a resposta cruzada, apenas um deles, aos 45 dias pós-inoculação, apresentou-se positivo no teste. De acordo com esses autores, uma das vantagens da utilização do ELISA em estudos sorológicos na região Sul-Americana é a ausência de espécies de *Trypanosoma* que induzem forte reação cruzada com *T. vivax*, como ocorre com o *T. congolense* no continente africano.

1.3. Métodos moleculares

A detecção de um segmento de DNA permite realizar um diagnóstico espécie-específico de infecções ativas por *Trypanosoma*, pois após a morte do parasito, a circulação de DNA livre no hospedeiro é de no máximo dois dias (Desquesnes, 2004). Desde os anos 80 esses métodos tem sido utilizados, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), que tem contribuído para a identificação, caracterização e diagnóstico de diversas espécies de *Trypanosoma* (Desquesnes e Dávila, 2002).

Diversas técnicas, tais como *buffy coat* e o sedimento do plasma centrifugado, são capazes de aumentar a sensibilidade da PCR (Desquesnes, 2004). Em geral, detecta-se duas vezes mais amostras positivas pela PCR do que por técnicas parasitológicas (Solano et al., 1999). Adicionalmente, vários marcadores moleculares tem sido utilizados para a PCR, tais como antígeno específico reconhecido pelo anticorpo monoclonal Tv27 (Masake et al., 1994), sequências satélites ou microsátélites (Masiga et al., 1992; Morlais et al., 2001), sequências *spliced-leader* (Ventura et al., 2001) e espaçadores de transcritos internos de DNA ribossomal (Adams et al., 2008). Porém, a identificação molecular de diversos isolados de *T. vivax* de diferentes regiões geográficas pode ser difícil devido à variabilidade genética, particularmente em isolados da África (Cortez et al., 2009).

A amplificação isotérmica de DNA mediada por *loop* (LAMP), utiliza enzima que permite rápida amplificação sob condições isotérmicas e se baseia em sequências satélites de DNA (Gonzatti et al., 2014). Para *T. vivax*, essa técnica, que consiste numa variação da PCR convencional, se mostrou altamente sensível, detectando 1 tripanossoma/mL de sangue, enquanto na PCR convencional, a detecção varia de 10 a 10³ parasitas/mL (Njiru et al., 2011), constituindo-se uma ferramenta promissora para diagnóstico molecular (Gonzatti et al., 2014).

Por fim, é importante salientar que nem todas as infecções podem ser detectadas pela PCR, especialmente durante a ausência de parasitemia, que é limitante para esse método diagnóstico (Desquesnes e Dávila, 2002).

2. Aspectos epidemiológicos da tripanossomose bovina na África Subsaariana

A epidemiologia da tripanossomose depende das interações entre parasito, vetor e hospedeiro (Dagnachew e Bezie, 2015). Na África, diversas espécies de ungulados são hospedeiros para *T. vivax*, incluindo animais domésticos tais como bovinos, ovinos, caprinos, equídeos e camélídeos, aos quais o parasito é patogênico, assim como animais silvestres e selvagens, que atuam como reservatórios (Anderson et al., 2011; Biryomumaisho et al., 2013; Sow et al.,

2013). Nos países africanos, *T. vivax* é encontrado em áreas onde há a presença de moscas do gênero *Glossina* (tsé-tsé), assim como em áreas na ausência de tal mosca (Desquesnes e Dia, 2004; Cherenet et al., 2006; Sinshaw et al., 2006; Delafosse et al., 2006).

Nos últimos anos, diversos estudos epidemiológicos realizados em diferentes países da África (Figura 1) reiteraram a importância da tripanossomose bovina para a pecuária da África Subsaariana (Tabelas 1 e 2), com prevalências apresentando consideráveis variações, as quais estão associadas a fatores como a região estudada, a utilização de drogas contra o parasito e seus vetores, a sensibilidade das técnicas utilizadas para diagnóstico, características particulares da infecção das diferentes espécies de tripanossomas, a idade dos animais, a época do ano, o escore de condição corporal (ECC) dos bovinos, a migração de animais, o manejo e a raça dos bovinos (Angwech et al., 2015).

Tabela 1. Prevalência da tripanossomose bovina na última década em diferentes regiões de países do Oeste (África Ocidental) e Centro-Norte da África e os testes diagnósticos utilizados.

PAÍS	REGIÃO	ESPÉCIES ¹	PREVALÊNCIA (%)	TESTE ²	REFERÊNCIA
Burquina Faso	Sudoeste	<i>T. vivax</i> e <i>T. congolense</i>	1,67-18,3 32,01-70,74	<i>Buffy coat</i> ELISA	Dayo et al., 2010
	Transecto Sul-Norte	<i>T. vivax</i> e <i>T. congolense</i>	0-20 18-83	<i>Buffy coat</i> ELISA	Pagabeleguem et al., 2012
	<i>Boucle du Mouhoun</i>	<i>T. vivax</i> e <i>T. congolense</i>	0,77 34,2	<i>Buffy coat</i> ELISA	Sow et al., 2013
Chade	Lago Chade	<i>T. vivax</i>	1,6 43,2	<i>Buffy coat</i> ELISA	Delafosse et al., 2006
	Oeste superior	<i>T. vivax</i> e <i>T. brucei</i> <i>T. brucei</i> e <i>T. vivax</i>	2,5 19	<i>Buffy coat</i> ELISA	Adam et al., 2012
Gana	Sul	<i>T. vivax</i> , <i>Trypanozoon</i> , <i>T. congolense</i> e <i>T. simiae</i>	57,5	PCR	Nakayima et al., 2012
	Nigéria	Centro-Norte	<i>T. vivax</i> e <i>T. congolense</i>	3,8	<i>Buffy coat</i>
Norte e Sul		<i>T. congolense</i> , <i>T. vivax</i> e <i>T. brucei</i>	15,1 63,7	<i>Buffy coat</i> PCR	Takeet et al., 2013
<i>Jos Plateau</i>		<i>T. congolense</i> , <i>T. vivax</i> e <i>T. brucei</i>	46,8	PCR	Majekodunmi et al., 2013
Senegal	Oeste	<i>T. vivax</i>	2,4	<i>Buffy coat</i>	Seck et al., 2010
		<i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i> e <i>T. brucei</i>	33,4	ELISA	

¹ A ordem das espécies representa a sequência decrescente de prevalência das espécies; ² *Buffy coat* realizado de acordo com Murray et al. (1977).

Com base nas técnicas de diagnóstico parasitológicas, como a técnica de centrifugação do hematócrito – TCH (Woo, 1969), o *buffy coat* (Murray et al., 1977) e os esfregaços sanguíneos finos ou espessos, observam-se prevalências na última década de 0 a 36,81% (Delafosse et al., 2006; Sinshaw et al., 2006; Mihret e Mamo, 2007; Ohaga et al., 2007; Magona et al., 2008; Specht, 2008; Dayo et al., 2010; Seck et al., 2010; Tadesse e Tsegaye, 2010; Mekuria e Gadissa et al., 2011; Adam et al., 2012; Enwezor et al., 2012; Fikru et al., 2012; Pagabeleguem et al., 2012; Biryomumaisho et al., 2013; Sow et al., 2013; Takeet et al., 2013; Angwech et al., 2015; Haji et al., 2015; Mbewe et al., 2015; Terefe et al., 2015), chegando a 43% em um estudo realizado após um surto na região Sul do Sudão (Salim et al., 2011). No entanto, utilizando-se técnicas moleculares, as prevalências variam de 2,4 a 63,7% (Karimuribo et al., 2011; Fikru et al., 2012; Nakayima et al., 2012; Majekodunmi et al., 2013; Takeet et al., 2013; Alingu et al., 2014; Angwech et al., 2015; Haji et al., 2015). Já os estudos que avaliaram a soroprevalência, apontaram variação de 18 a 96,7% dos animais com anticorpos anti-*Trypanosoma* (Cherenet et

al., 2006; Delafosse et al., 2006; Dayo et al., 2010; Seck et al., 2010; Adam et al., 2012; Pagabeleguem et al., 2012; Sow et al., 2013). Em uma meta-análise da situação epidemiológica da tripanossomose bovina na Etiópia evidenciou-se redução da prevalência desde 2010, justificada por um possível resultado de atividades de controle de tsé-tsé em áreas infestadas (Leta et al., 2016). No entanto, vale ressaltar que em áreas livres dessa mosca, *T. vivax* é transmitido com eficiência mecanicamente, necessitando de medidas adicionais para o seu controle.

Tabela 2. Prevalência da tripanossomose bovina na última década em diferentes regiões de países do Leste Africano (África Oriental) e os testes diagnósticos utilizados.

PAÍS	REGIÃO	ESPÉCIES ¹	PREVALÊNCIA (%)	TESTE ²	REFERÊNCIA
Etiópia	Noroeste	<i>T. congolense</i> e <i>T. vivax</i>	96,7 (com tsé-tsé)	ELISA	Cheremet et al., 2006
		<i>T. vivax</i>	83,3 (sem tsé-tsé)		
		<i>T. vivax</i>	6,1		
	Sudoeste	<i>T. congolense</i> e <i>T. vivax</i>	8,2	<i>Buffy coat</i>	Mihret e Mamo et al., 2007
		<i>T. congolense</i> e <i>T. vivax</i>	12,41	TCH	Mekuria e Gadissa, 2011
		<i>T. congolense</i> , <i>T. vivax</i> e <i>T. brucei</i>	4,4	<i>Buffy coat</i>	Tadesse e Tsegaye, 2010
		<i>T. congolense</i> , <i>T. vivax</i> e <i>T. brucei</i>	6,1	<i>Buffy coat</i>	Terefe et al., 2015
---	<i>T. vivax</i> , <i>T. theileri</i> , <i>T. congolense</i> e <i>Trypanozoon</i>	5,3	TCH	Fikru et al., 2012	
		31	PCR		
Moçambique	Central	<i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i> e <i>T. brucei</i>	6,21 (Fazendas comerciais)	TCH e esfregaços	Specht, 2008
		<i>T. congolense</i> , <i>T. vivax</i> e <i>T. brucei</i>	36,81 (Pequenos rebanhos)		
Quênia	Sul	<i>T. congolense</i> e <i>T. vivax</i>	18	<i>Buffy coat</i>	Ohaga et al., 2007
Sudão	Sul	<i>T. vivax</i> e <i>T. congolense</i>	43*	TCH	Salim et al., 2011
Tanzânia	Costa Leste	<i>T. congolense</i> , <i>T. vivax</i> e <i>T. brucei</i>	23,4	PCR	Karimuribo et al., 2011
	Norte	<i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i> e <i>T. brucei</i>	2,4 27,8	Esfregaço LAMP	Haji et al., 2015
Uganda	Leste	<i>T. vivax</i> e <i>T. congolense</i>	12,2*	<i>Buffy coat</i> e TCH	Magona et al., 2008
	---	<i>T. vivax</i> , <i>T. brucei</i> e <i>T. congolense</i>	7,6	<i>Buffy coat</i>	Biryomumaishe et al., 2013
	Sudoeste	<i>T. vivax</i> e <i>T. brucei</i>	2,4	PCR	Alingu et al., 2014
	Norte	<i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i> e <i>T. brucei</i>	22 41	TCH PCR	Angwech et al., 2015
Zâmbia	Central	<i>T. congolense</i> e <i>T. vivax</i>	1,7	Gota espessa	Mbewe et al., 2015

¹ A ordem das espécies representa a sequência decrescente de prevalência das espécies; ² *Buffy coat* realizado de acordo com Murray et al. (1977), TCH (técnica de centrifugação de hematócrito) realizada de acordo com Woo (1969), LAMP (*Loop mediated isothermal amplification*); *Surto.

Diferenças nas prevalências são observadas em função dos diferentes métodos diagnósticos utilizados, uma vez que se baseiam em formas de detecção direta e indireta distintas. Em Burquina Faso, Sow et al. (2013) destacaram a baixa prevalência parasitológica (0,77%) e a alta prevalência sorológica (34,2%). Esta situação indica que os animais estão frequentemente em contato com os parasitos, mesmo com parasitemias baixas a ponto de não serem detectadas

pelos testes parasitológicos e, por outro lado, capazes de induzir a formação de anticorpos, que permanecem em níveis detectáveis por tempo prolongado. Isso também foi evidenciado em outro estudo realizado nesse país, onde as prevalências parasitológicas variaram de 0 a 20%, enquanto a sorológica de 18% a 83% (Pagabeleguem et al., 2012). Adicionalmente, Dayo et al. (2010) encontrou prevalências parasitológicas mensais variando de 1,67% a 18,3% e soroprevalências mensais de 32,01% a 70,74%. No Oeste Superior de Gana, Adam et al. (2012) encontraram prevalência parasitológica de 2,5%, enquanto a soroprevalência foi 19%. Esses autores atribuíram a baixa prevalência parasitológica ao reduzido desafio por tsé-tsé na região, uma vez que prevalências parasitológicas superiores a 5% estiveram localizadas em áreas com altas densidades de tsé-tsé e localizadas próximas a rios, cuja vegetação ribeirinha fornece abrigo às moscas do gênero *Glossina*. No Senegal, prevalências parasitológicas entre rebanhos positivos variou de 2,6% a 13,3%, enquanto a soroprevalência média foi 33,4% (Seck et al., 2010).

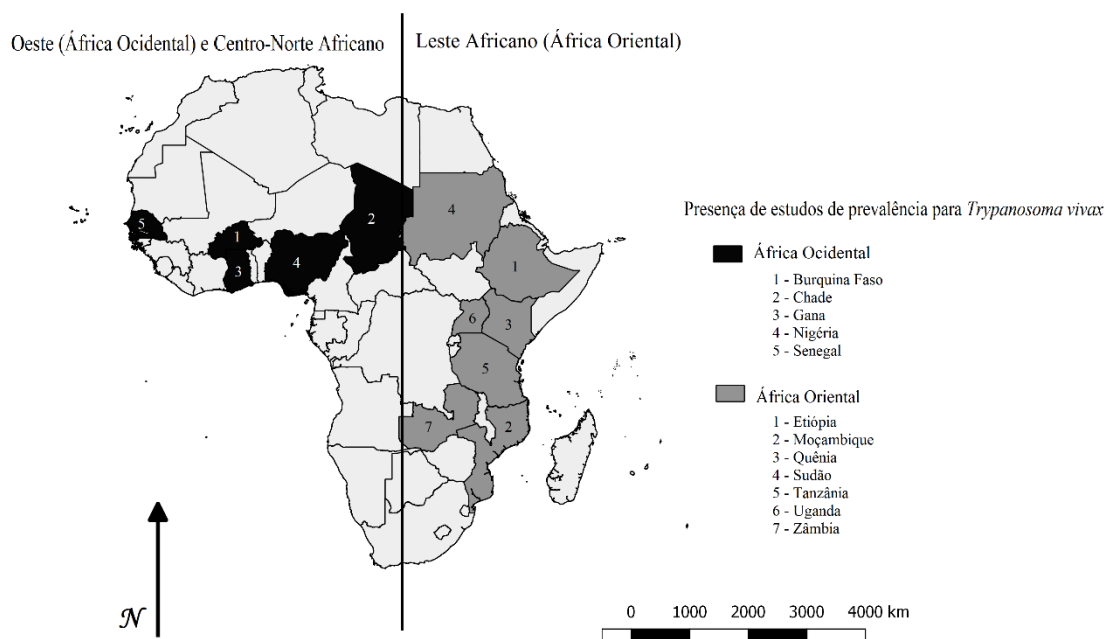


Figura 1. Localização geográfica dos países africanos que tiveram estudos de prevalência para tripanossomose bovina revisados na última década.

As técnicas parasitológicas apresentam baixa sensibilidade (Magona et al., 2005; Delafosse et al., 2006; Enwenzor et al., 2012; Takeet et al., 2013), com valores ao redor de 50% (Picozzi et al., 2002), porém possuem boa especificidade (Desquesnes, 1997), com valores acima de 94% (Takeet et al., 2013). Em situações de baixas parasitemias, a sensibilidade das técnicas parasitológicas é reduzida, o que é frequentemente observado em áreas endêmicas (Desquesnes, 1997; Angwech et al., 2015) e em bovinos tripanotolerantes (Naessens, 2006). Já na ocorrência de surtos, esses métodos tem a sensibilidade aumentada, identificando altas prevalências (Salim et al., 2011).

Em geral, a prevalência é muito mais alta quando se utiliza técnicas moleculares de alta sensibilidade (Karimuribo et al., 2011; Leta et al., 2016). Em um estudo realizado no Norte de Uganda, por meio da técnica de PCR detectou-se 41% dos animais contra 22% pela TCH (Angwech et al., 2015). A PCR tem alta sensibilidade e especificidade, necessitando de poucos parasitos por mL de sangue (Thumbi et al., 2008). Em casos crônicos da doença, a PCR pode ser duas (Angwech et al., 2015) a cinco vezes mais sensível (Fikru et al., 2012). No entanto, em

outro estudo realizado em Uganda, apenas 75% das amostras positivas no *buffy coat* apresentaram-se positivas na PCR (Biryomumaiho et al., 2013). Outros trabalhos também apresentaram menores taxas de detecção por métodos moleculares, sendo explicado pelo fato das amostras terem sido mal conservadas, sujeitando-se à degradação de DNA e subsequentemente subestimando-se a sensibilidade da técnica (Salim et al., 2011) ou a diferentes tripanossomas similares a *T. vivax* (Seck et al., 2010).

No Norte da Tanzânia, observou-se uma prevalência parasitológica de 2,4%, enquanto a utilização da técnica molecular LAMP (*Loop-mediated isothermal amplification*) demonstrou prevalência de 27,8% (Haji et al., 2015). Em áreas infestadas por tsé-tsé na Etiópia, a prevalência parasitológica foi mais alta (10,9%) que em áreas não infestadas (3,2%), enquanto que a prevalência molecular não apresentou diferenças (ao redor de 30%). Adicionalmente, *T. congolense* que fora diagnosticado parasitologicamente em áreas não infestadas por tsé-tsé foi apresentado como *T. vivax* via molecular (Fikru et al., 2012). De forma similar, métodos parasitológicos falharam em detectar *T. simiae* e *T. brucei*, tendo este uma natureza enzoótica crônica, cujo nível de parasitemia está usualmente abaixo do nível de detecção oferecido por tais métodos (Salim et al., 2011), enquanto *T. simiae* pode ter sido diagnosticado errado como *T. congolense*, já que são morfologicamente similares (Majiwa e Webster, 1987). Ademais, na Nigéria, *T. congolense* foi a espécie a qual se verificou a maior frequência de erros pelos métodos parasitológicos devido à baixa parasitemia comparada a *T. vivax* (Takeet et al., 2013). Na Costa Leste da Tanzânia, a prevalência parasitológica de *T. brucei* foi superior à de *T. congolense* e de *T. vivax*, enquanto na PCR *T. brucei* era o menos prevalente, evidenciando falhas de técnicas microscópicas em discriminar as espécies dos parasitos (Karimuribo et al., 2011).

É comum que a prevalência média de anticorpos seja bem maior que a prevalência parasitológica (Specht, 2008; Adam et al., 2012), especialmente pela persistência de anticorpos na ausência de infecção (Van den Bossche et al., 2000, Desquesnes, 2004). Alguns dos animais soropositivos, porém parasitologicamente negativos estão provavelmente infectados (falsos negativos), enquanto outros podem ter sido infectados, mas terem sido tratados (Adam et al., 2012).

Significativas variações na prevalência da tripanossomose bovina ocorrem entre as regiões (Mekuria e Gadissa, 2011; Angwech et al., 2015). Dessa forma, a origem de bovinos constitui em fator de risco para a disseminação de tripanossomas, apresentando variação entre localidades, com prevalências parasitológicas de 7,9% a 19% (Magona et al., 2008) e 2,9% a 11% (Biryomumaiho et al., 2013) em Uganda, 6,21% a 36,81% em Moçambique (Specht, 2008), 0 a 25% no Quênia (Ogaha et al., 2007), 3,5% a 11,6% na Etiópia (Mihret e Mamo, 2007) e de 0 a 13,3% em Senegal (Seck et al., 2010). Estas variações podem estar relacionadas não só a diferenças nos esforços para o controle da tripanossomose bovina e de tsé-tsé (Leta et al., 2016) como também ocorrem devido à taxa de hospedeiros que são picados por tsé-tsé (Rogers, 1988), à população de insetos hematófagos e quais deles estão presentes em cada localidade, à altitude (Mekuria e Gadissa, 2011), à densidade animal, à distância entre rebanhos, à quantidade de dióxido de carbono produzido pelo hospedeiro, que permite a atração de moscas tsé-tsé (Torr et al., 2006, Simukoko et al., 2007), assim como ao comportamento defensivo do hospedeiro frente à alimentação das moscas (Torr e Mwangiro, 2000). Em Burquina Faso, avaliando-se o transecto Sul-Norte, Pagabeleguem et al. (2012) verificaram aumento gradual das prevalências de tripanossomose bovina ao longo do gradiente climático, demonstrando a heterogeneidade espacial da doença com a variação do clima, que gerou menor diversidade no número de moscas tsé-tsé com o aumento da aridez, porém com aumento de outros vetores hematófagos. É interessante destacar que o risco de tripanossomose bovina também está ligado à densidade do vetor e às taxas de infecção por tripanossomas (Malele et al., 2011).

As áreas infestadas por tsé-tsé apresentam maior risco para bovinos adquirirem a tripanossomose comparado a áreas livres (Seck et al., 2010). Magona et al. (2005) verificaram prevalência parasitológica em áreas infestadas por tsé-tsé de 15,5%, enquanto em áreas livres esse valor foi inferior à metade (7,1%). No início de um estudo realizado na Etiópia, 96,7% dos animais da zona infestada por tsé-tsé tinham anticorpos anti-*Trypanosoma*, enquanto na zona livre isso ocorreu em 83,3% dos animais (Cherenet et al., 2006). Em Chade, foi observada soroprevalência aparente de 43,2% e por serem uma área considerada livre de tsé-tsé, essa prevalência foi avaliada como relativamente alta, porém isso é possível devido a persistência dos anticorpos por diversos meses, mesmo após tratamento (Delafosse et al., 2006). De acordo com Van den Bossche et al. (2000), anticorpos podem estar presentes até 12 meses após o contado, no entanto, Desquesnes (2004) relatou que os anticorpos duram aproximadamente quatro meses após uma infecção.

A administração de produtos sobre os animais para o controle de moscas hematófagas tem sido amplamente realizada. Formulações com deltametrina foram as mais usadas para reduzir o desafio por tsé-tsé e o consequente impacto da tripanossomose no Quênia (Ogaha et al., 2007) e na Etiópia (Leta et al., 2016). O uso intensivo desses produtos contribuiu para a baixa prevalência da doença em Uganda (Alingu et al., 2014). No Sudoeste da Etiópia, a prevalência parasitológica média de 4,4% foi muito inferior à esperada e sugeriu-se que o uso de deltametrina *pour on* foi responsável por reduzir significativamente a prevalência da doença (Tadesse e Tsegaye, 2010).

As drogas tripanocidas também fazem parte da estratégia de minimização da doença na África, tendo como principais o aceturato de diminazeno e o cloreto de isometamídio (Fikru et al., 2012; Sow et al., 2013). Em Burquina Faso, na região de *Boucle du Mouhon*, 12,9% dos bovinos tinham sido medicados com cloreto de isometamídio e 11,7% com aceturato de diminazeno há menos de três meses da amostragem para um estudo epidemiológico, uma vez que o rebanho dessa região era composto em sua maioria de raças susceptíveis, resultando em prevalência parasitológica de 0,77% (Sow et al., 2013). Isto também foi observado por outros autores na Etiópia (Mihret e Mamo, 2007; Tadesse e Tsegaye, 2010), Senegal (Seck et al., 2010) e Gana (Adam et al., 2012). No entanto, subdosagem, administração de drogas falsas ou resistência às drogas podem resultar em um tratamento ineficiente, gerando altas prevalências parasitológicas (Fikru et al., 2012). Menores prevalências parasitológicas de *T. vivax* comparado a *T. congolense* podem ser reflexo da maior virulência de *T. vivax* no Oeste da África, induzindo os produtores a procurarem o diagnóstico e o tratamento (Takeet et al., 2013).

As espécies mais prevalentes de tripanossomas na África, em geral, são *T. vivax* e *T. congolense*. Na África Ocidental (Oeste Africano), *T. vivax* usualmente é o mais presente comparado a *T. congolense* (Tabela 1), enquanto o inverso ocorre no Leste Africano (África Oriental), conforme apresentado na Tabela 2. Na Etiópia, *T. congolense* é considerado a espécie de tripanossoma mais importante (Cherenet et al., 2006; Mihret e Mamo, 2007; Tadesse e Tsegaye, 2010; Mekuria e Gadissa, 2011; Terefe et al., 2015), porém *T. vivax* tem se apresentado tão significante quanto (Sinshaw et al., 2006; Fikru et al., 2012; Leta et al., 2016). Isto também tem ocorrido em Moçambique (Specht, 2008), Sudão (Salim et al., 2011), Tanzânia (Haji et al., 2015) e Uganda (Magona et al., 2008; Biryomumaisho et al., 2013; Alingu et al., 2014; Angwech et al., 2015). O foco da Campanha de Erradicação de Tsé-tsé e Tripanossomose Pan-Africana, que visa erradicar moscas tsé-tsé e a tripanossomose humana no continente africano, pode ter pouco efeito sobre a prevalência de *T. vivax* e esforços devem ser adotados para controlar a transmissão mecânica por moscas hematófagas e tabanídeos (Leta et al., 2016).

A baixa prevalência de *T. brucei* nos estudos pode ser explicada pelo fato desse tripanossoma ter a facilidade de atravessar a parede dos vasos sanguíneos (Mihret e Mamo, 2007), o que dificulta a sua detecção em amostras de sangue, especialmente oriundas de animais anêmicos, os quais são mais prováveis de ter doença crônica. Ademais, essa reduzida prevalência de *T.*

brucei pode estar relacionada à resistência de bovinos locais a esta espécie (Kalu, 1996). Portanto, *T. congolense*, e em menor extensão, *T. vivax* são os principais causadores de anemia em áreas endêmicas para tripanossomose bovina no Leste da África (Mbewe et al., 2015). Dessa forma, a alta prevalência de *T. congolense* implica na saúde e produtividade animal (Majekodunmi et al., 2013), causando redução maior no volume globular (VG) comparado a *T. vivax* (Dayo et al., 2010) e podendo provocar doença aguda e fatal (Magona et al., 2005).

Em várias regiões de Uganda, *T. vivax* é a espécie mais prevalente (Desquesnes e Dia, 2003; Magona et al., 2004; Magona et al., 2008; Biryomumaisho et al., 2013; Angwech et al., 2015), especialmente em áreas infestadas por *Glossina fuscipes fuscipes* (Magona et al., 2005; Sow et al., 2013). Diferenças na competência e habilidade de transmitir tripanossomas entre as espécies de moscas tsé-tsé existem (Dayo et al., 2010; Seck et al., 2010; Mekuria e Gadissa, 2011; Pagabeleguem et al., 2012; Haji et al., 2015), particularmente entre *G. f. fuscipes* e *G. pallidipes*, que possuem maior afinidade para transmitir *T. vivax* e *T. congolense*, respectivamente (Moloo e Kutuza, 1988). Além disso, *T. vivax* pode ser transmitido mecanicamente (Cheremet et al., 2006; Delafosse et al., 2006; Sinshaw et al., 2006; Haji et al., 2015), dificultando o seu controle mesmo em áreas com métodos intensos para o controle de vetores (Desquesnes e Dia, 2003; Desquesnes e Dia, 2004).

No Oeste Africano, hipóteses tem sido formuladas para explicar a maior prevalência de *T. vivax*, tais como: a menor virulência de *T. vivax* frente a *T. congolense*, causando seu melhor controle pelos animais (Authié et al., 1999); a facilidade de *T. congolense* causar anemia intensa, levando à morte rápida de bovinos (Bengaly et al., 2002); e o ciclo de vida de *T. vivax* ser mais curto entre todas as espécies de tripanossomas (Jordan et al., 1974), favorecendo sua transmissão em locais cujo habitat de tsé-tsé se encontra desequilibrado, com comprometimento do ciclo de vida das moscas (Dayo et al., 2010). No entanto, o principal fator sobre a maior prevalência de *T. vivax* na África Ocidental parece ser a maior virulência dos isolados presentes nessa região comparado aos do Leste Africano (Osório et al., 2008).

Porém, na África Oriental a forma aguda da doença ocorre ocasionalmente em situações de surtos. Em um surto de síndrome hemorrágica aguda de tripanossomose bovina em Uganda observou-se prevalência parasitológica superior em rebanhos com alta mortalidade (21,5%) do que em rebanhos sem mortalidade (2,6%). A mortalidade ocorreu em 35% dos animais na região Leste do país, com mortes registradas em quase 60% dos rebanhos (Magona et al., 2008). De forma semelhante, no Sul do Sudão, Salim et al. (2011) relataram mortalidade variando entre 20% e 90% em uma situação de surto.

Um indicador de tripanossomose bovina é o volume globular (Fikru et al., 2012; Mbewe et al., 2015), uma vez que a anemia é reconhecida como a característica patológica mais importante da tripanossomose (Biryomumaisho et al., 2013). Bovinos infectados tem VG menor que animais não infectados (Magona et al., 2004; Cheremet et al., 2006; Delafosse et al., 2006; Sinshaw et al., 2006; Mihret e Mamo, 2007; Magona et al., 2008; Dayo et al., 2010; Tadesse e Tsegaye, 2010; Mekuria e Gadissa, 2011; Enwenzor et al., 2012; Fikru et al., 2012; Biryomumaisho et al., 2013; Terefe et al., 2015), com valores inferiores de VG em animais com parasitemias mais altas (Takeet et al., 2013). No entanto, a presença de anemia em bovinos não infectados por tripanossomas evidencia a existência de outras causas que promovem essa alteração (Mbewe et al., 2015), tais como helmintos gastrointestinais, infecções intercorrentes, estresse em busca de alimento e água e pobre estado de nutrição dos animais (Marcotty et al., 2008; Biryomumaisho et al., 2013). Por outro lado, bovinos positivos para *Trypanosoma* spp., porém sem anemia, podem refletir novas infecções que não progrediram para a cronicidade, podendo ocorrer por diferenças entre a patogenicidade de isolados (Biryomumaisho et al., 2013), assim como pela eficácia de tratamentos, mantendo-se a condição de saúde dos animais mesmo na presença do parasito e seus vetores (Sow et al., 2013).

Na Nigéria (Oeste Africano), o VG de animais infectados com *T. vivax* foi menor e as parasitemias foram mais altas em infecções por esse tripanossoma, indicando que *T. vivax* pode ser mais patogênico em bovinos que *T. congolense* e *T. brucei* (Takeet et al., 2013). Em Gana, o VG médio de animais positivos da raça Sanga foi inferior ao de animais negativos, enquanto em animais das raças WASH (*West African Shortorn*) e Zebu o VG não diferiu entre bovinos positivos e negativos (Adam et al., 2012). Similarmente, Pagabeleguem et al. (2012) não verificaram variação de VG entre animais soropositivos e soronegativos (Pagabeleguem et al., 2012). Em Moçambique, animais de rebanhos comerciais tiveram VG mais alto que animais de pequenos rebanhos, provavelmente pelo tratamento contra hemoparasitos e parasitos gastrointestinais e ao manejo da pastagem e suplementação alimentar durante a seca realizados nos primeiros (Specht, 2008). Adicionalmente, o VG médio de animais de vilas com a presença de tsé-tsé foi menor que de vilas sem essa mosca devido à maior prevalência da doença (Magona et al., 2005).

Outro fator que se encontra associado ao risco de bovinos para tripanossomose é a idade. Em geral, animais mais velhos possuem maior prevalência da doença que animais mais jovens. No Norte de Uganda, uma maior prevalência foi visualizada em animais acima de 48 meses de idade comparada a animais com menos de 12 meses (Angwech et al., 2015). Em uma situação de surto de doença aguda hemorrágica nesse país, animais com mais de seis meses tiveram prevalência maior de tripanossomose que animais com idade inferior (Magona et al., 2008). A idade também afetou a infecção por *T. vivax* na Nigéria, com menor prevalência em animais com menos de um ano de vida (Takeet et al., 2013) e em um estudo realizado em Gana, a soroprevalência foi superior em animais adultos da raça Zebu (Adam et al., 2012). Similarmente, em Burquina Faso (Dayo et al., 2010) e em Chade (Delafosse et al., 2006), maior prevalência sorológica foi observada em animais mais velhos. No entanto, na Etiópia, alguns trabalhos não observaram diferenças no VG entre animais de diferentes idades (Mihret e Mamo, 2007; Tadesse e Tsegaye, 2010; Fikru et al., 2012; Terefe et al., 2015) enquanto Cherenet et al. (2006) observaram que em zonas infestadas por tsé-tsé a incidência de tripanossomose foi maior em animais mais velhos.

A relação da maior prevalência de tripanossomose bovina em animais mais velhos pode ser atribuída a diferenças no período de exposição aos vetores entre os grupos de idade dos bovinos (Takeet et al., 2013). Em tradicionais sistemas de pastejo, bezerros em aleitamento ficam em áreas restritas ou pastejam nas proximidades da casa, estando longe dos adultos até desmamarem (Magona et al., 2000). Esta prática minimiza o contato dos animais jovens com os vetores comparado aos bovinos adultos. Ademais, bezerros estão protegidos por imunidade materna, que ajuda a manter a parasitemia baixa, a níveis não detectáveis (Angwech et al., 2015). Fatores adicionais tais como a diferença da atratividade de animais de idades diferentes a moscas tsé-tsé são relatados. Estudos sobre a preferência do hospedeiro apresentaram que moscas tsé-tsé são mais atraídas pelo odor de animais mais velhos (Torr e Mwangiro, 2000; Torr et al., 2006). Adicionalmente, do ponto de vista sorológico, a persistência de anticorpos auxilia no aumento de positividade em animais de maior idade (Delafosse et al., 2006).

A maioria dos estudos não aponta diferenças entre o sexo e a prevalência de tripanossomose bovina (Mihret e Mamo, 2007; Tadesse e Tsegaye, 2010; Mekuria e Gadissa, 2011; Fikru et al., 2012; Biryomumaisho et al., 2013; Takeet et al., 2013). No entanto Magona et al. (2008) e Angwech et al. (2015) observaram que machos apresentaram maior risco do que fêmeas para a doença, justificando-se pelo *status* funcional do animal de estresse devido ao uso dos bois para arar a terra. Adicionalmente, apesar de cores de pelo mais escuras serem preferidas por tsé-tsé que cores claras, Mihret e Mamo (2007) não observaram diferenças na prevalência em animais de diferentes padrões de coloração da pelagem em bovinos da Etiópia.

A variação climática também influencia a prevalência da doença por estar relacionada à população de vetores. A prevalência parasitológica de tripanossomose bovina foi maior no

período chuvoso comparada ao seco em um estudo no Sudoeste da Etiópia, coincidindo com o maior número de moscas, que justifica a maior prevalência no período das chuvas, e levando a um VG médio na época chuvosa menor que na seca (Terefe et al., 2015). No Noroeste desse país, a prevalência da doença foi superior no final do período chuvoso que no início da seca (Sinshaw et al., 2006), assim como foi superior no início da seca do que no final desse período devido à alta densidade de moscas no final da época chuvosa, o que permite o aumento da disseminação do parasito (Mihret e Mamo, 2007). Maior prevalência também foi observada no final do período chuvoso na Nigéria, devido a variações sazonais na população de vetores (Majekodunmi et al., 2013). Já a redução da prevalência na época seca poder estar relacionada não só à menor população de vetores como também pelo fato de que proprietários tratam os seus animais nesse período, diminuindo o número de animais infectados e, conseqüentemente, reduzindo a fonte de infecção (Sinshaw et al., 2006). No entanto, Dayo et al. (2010) e Sow et al. (2013) evidenciaram maior prevalência na época seca, justificando-se pelo fato de as bordas dos rios perenes fornecerem alimento para os animais, aumentando o risco de infecção por facilitar o contato entre os vetores e os hospedeiros.

A condição corporal dos animais está diretamente relacionada à presença de infecção e prevalências parasitológicas maiores em bovinos com condição corporal baixa comparado a condições corporais superiores foram observadas no Noroeste (Sinshaw et al., 2006; Mekuria e Gadissa, 2011) e Sudoeste da Etiópia (Tadesse e Tsegaye, 2010; Terefe et al., 2015), assim como na Nigéria (Takeet et al., 2013). Porém alguns estudos não apontam diferenças entre as diferentes condições corporais e a positividade de animais (Fikru et al., 2012), provavelmente devido à intensa realização de tratamentos pelos fazendeiros (Sow et al., 2013).

A migração de bovinos apresenta uma associação positiva para a prevalência de tripanossomose por serem mais desafiados durante a rota e em seus destinos, aumentando a susceptibilidade, inclusive pelo estresse resultante das caminhadas. Evidência disso é dada pela substituição do transporte a pé pelo uso de caminhões, com redução da prevalência da doença (Majekodunmi et al., 2013). No entanto, em duas regiões de Burquina Faso, a prevalência parasitológica foi maior em sistema de criação sedentário comparado aos que praticavam longa transumância em direção a áreas subúmidas e úmidas do Sul do país. Isto ocorreu pelo fato de rebanhos sedentários e de baixa transumância serem contaminados localmente por vetores mecânicos a partir de animais infectados durante a migração em áreas endêmicas para a tripanossomose, além da menor frequência de tratamentos em bovinos sedentários e a concentração destes ao longo de pontos de água, experimentando alto contato com moscas tsé-tsé à beira dos rios (Pagabeleguem et al., 2012). Porém, na região de *Boucle du Mouhoun* desse país, os bovinos que são geralmente levados para longe das vilas, usualmente próximo aos rios em busca de pasto, apresentam maior prevalência da doença (Sow et al., 2013).

O manejo extensivo é um fator de risco conhecido para tripanossomose. Animais manejados extensivamente tiveram prevalência parasitológica de 14,4% (Majekodunmi et al., 2013), enquanto Kalu (1996) relatou prevalência de 7,45%. Na Costa Leste da Tanzânia, bovinos manejados em pastos foram mais infectados com *T. brucei* e *T. congolense* que bovinos manejados intensivamente devido, neste caso, aos animais criados extensivamente não receberem tratamento nem terem controle regular de moscas (Karimuribo et al., 2011). No entanto, sob condições de pastejo, na região Sudoeste de Uganda, uma baixa prevalência foi observada, ocorrendo pelo fato de os animais serem submetidos ao pastejo em áreas restritas (Alingu et al., 2014).

Algumas raças de bovinos na África são consideradas tripanotolerantes. Bovinos N'Dama tiveram menor prevalência de tripanossomose que as outras raças como Mututu, Sokoto Gudali e Fulani Branca (Takeet et al., 2013). Em Gana, bovinos da raça Sanga tiveram prevalência superior e menor média de VG que animais das raças WASH (*West African Shortorn*) e Zebu, sugerindo que esses animais estiveram recentemente infectados, tendo em vista que as raças

Sanga e WASH são consideradas tripanotolerantes. No entanto, bovinos da raça Zebu não apresentaram alterações, possivelmente devido ao uso frequente de drogas tripanocidas nesses animais, que são muito susceptíveis (Adam et al., 2012). Em Chade, o risco de soropositividade aumentou com a raça Kuri, reconhecida como tripanotolerante. Isto foi justificado pela maior susceptibilidade de bovinos mestiços, que apresentam rápida mortalidade e conseqüentemente baixa prevalência sorológica e pelo maior número de infecções iniciais com parasitemias agudas em bovinos mestiços, sem a resposta adequada de anticorpos (Delafosse et al., 2006). Já em Uganda, a prevalência de infecção em bovinos da raça Ankole foi igual à de animais da raça Nkedi Zebu, porém esta apresentou VG superior, sendo considerada mais resistente (Magona et al., 2004).

A África Subsaariana, portanto, consiste, como um todo, numa região endêmica para a tripanossomose bovina. Porém, circunstâncias específicas que aumentam o desafio, ou seja, ligadas à abundância de vetores, à taxa de infecção e à virulência dos isolados, assim como aquelas que comprometem a imunidade do hospedeiro, tais como a baixa disponibilidade de alimento e situações que geram estresse, facilitam a ocorrência da doença, inclusive na forma de surtos. Em adição, é evidente a influência dos métodos diagnósticos sobre a prevalência dessa enfermidade.

3. Aspectos epidemiológicos da tripanossomose bovina na América Latina

Trypanosoma vivax tem sua origem na África e foi introduzido nas Américas, provavelmente, com a importação de animais oriundos do Oeste Africano (Wells, 1984; Osório et al., 2008), com maiores evidências diante das similaridades entre os isolados dessas duas regiões (Dirie et al., 1993; Cortez et al., 2009; García et al., 2014). Na Colômbia, Wells et al. (1970) sugeriram que o parasito tenha entrado por importação de bovinos Zebu entre 1927 e 1929. No entanto, os isolados americanos aparentemente perderam a capacidade de infectar moscas tsé-tsé (Roubaud et al., 1938; Dirie et al., 1993), mostrando-se adaptados à transmissão mecânica (Wells, 1984).

Na América Latina, a tripanossomose bovina foi relatada inicialmente na Guiana Francesa (Leger e Vienne, 1919) e posteriormente, na Venezuela (Tejera, 1920), nas ilhas Caribenhas de Guadalupe (Fabre e Bernard, 1926) e Martinica (Carougeau, 1929), na Colômbia (Plata, 1931), no Suriname (Nieschulz et al., 1938), no Panamá (Johnson, 1941), no Brasil (Boulhosa, 1946, citado por Shaw e Lainson et al., 1972) e tornou-se presente em diversos países. Especificamente na América do Sul, a doença se encontra presente em dez dos 13 países (Jones e Dávila, 2001), não havendo relatos apenas na Argentina, Chile e Uruguai. Na década de 70, Wells et al. (1977) observaram soroprevalência, utilizando RIFI, de 14,3% no Peru, 15% em El Salvador, 22,5% no Equador, 22,9% na Costa Rica, 40% no Paraguai, 48,2% na Colômbia e 54% no Brasil (estado de Mato Grosso). Na América Latina, houve a criação de uma situação instável devido a um período que os animais perdem a imunidade e se tornam susceptíveis novamente, conjuntura na qual surtos usualmente ocorrem (Cherenet et al., 2006). A Tabela 3 apresenta dados referentes a prevalências da tripanossomose bovina na América Latina.

No Peru, Tafur et al. (2002) observaram que 10% de 270 animais localizados em uma região a 2.300m de altitude apresentaram-se positivos no esfregaço sanguíneo, na ausência de sinais clínicos. No ano seguinte, Quispe et al. (2003) relataram a prevalência de *T. vivax* em bovinos aparentemente sadios, criados de forma extensiva, de 22,2% pela TCH, chegando a 97% em um dos distritos, enquanto pelo *buffy coat*, a prevalência média foi 5,9%. Outra pesquisa revelou que em Lima, a prevalência de *T. vivax* pela PCR foi 3,8%, enquanto em Pucallpa e Huancayo, não foram detectados animais positivos para este agente, porém em Pucallpa detectou-se *T. evansi*. A ausência de tripanossomas em Huancayo provavelmente é devido à alta altitude, o que não condiz com a existência de vetores (Mekata et al., 2009).

Na Costa Rica, após a evidência de ocorrência da doença relatada por Wells et al. (1977), em 2003, *T. vivax* foi identificado em cervos de cauda branca (*Odocoileus virginianus*) na província

de Puntarenas. Porém, só depois de mais de 30 anos, um surto de tripanossomose bovina ocorreu, atingindo 50 animais de várias idades entre 450 bovinos da raça Pardo Suíço, constatando-se *T. vivax* em 32,1% dos animais examinados através de esfregaços sanguíneos (Oliveira et al., 2009). Na Guiana Francesa, soroprevalência geral por meio de ELISA foi 29% e o parasito foi detectado em todo o país, com variação entre regiões de 25% a 59% e devido à ausência de sinais clínicos durante 2-3 anos demonstra-se que a infecção é estável no país (Desquesnes e Gardiner, 1993). Em Martinica, tripanossomose não foi relatada tanto clinicamente quanto sorologicamente (Alonso et al., 1992).

Tabela 3. Prevalências de tripanossomose bovina em países da América Latina de acordo com os respectivos testes diagnósticos e regiões.

PAÍS	REGIÃO	PREVALÊNCIA (%)	TESTE ¹	REFERÊNCIA
El Salvador	-	15	RIFI	Wells et al., 1977
Equador	-	22,9		
Paraguai	-	40		
Peru	-	14,3		
	-	10	Esfregaço	Tafur et al., 2002
	-	22,2	TCH	Quispe et al., 2003
	-	5,9	<i>Buffy coat</i>	
	Lima	3,8	PCR	Mekata et al., 2009
	Pucallpa	0		
	Huancayo	0		
Costa Rica	-	22,9	RIFI	Wells et al., 1977
	-	32,1	Esfregaço	Oliveira et al., 2009
Guiana Francesa	-	29	ELISA	Desquesnes e Gardiner, 1993
Colômbia	-	48,2	RIFI	Wells et al., 1977
	Vale Cauca	51	RIFI	Wells et al., 1982
	Planícies Orientais	47		
	Córdoba	46,23	RIFI	García et al., 1992
	-	2,7	TCH	
	Planícies da Costa Atlântica	2,75	TCH	Otte et al., 1994
Venezuela	Vale de Aroa	38,2	RIFI	Sandoval et al., 1998
	Carabobo	39,5	ELISA	González e Meléndez, 2007
	-	33,1	RIFI/ELISA	Suárez et al., 2009
	-	5,9	TCH	
	Zulia	77*	TCH	Simois et al., 2009
	-	18,43	<i>Buffy coat</i>	Agudo et al., 2009
	-	85,76	ELISA	
	Guárico	14	ELISA	Aray et al., 1998
	-	60	RIFI	Tamasaukas et al., 2002
	-	0,87	TCH	Tamasaukas et al., 2014
	-	2,68	Esfregaço	
	-	54,67	ELISA	
	-	37,7	ELISA	Uzcanga et al., 2016
Bolívia	<i>Germán Bush</i>	45	TCH	Silva e Dávila, 2001
	-	17,7	PCR	Gonzales et al., 2007
	-	2,35	TCH	
	Angel Sandoval	25,54	PCR	
	-	12,38	TCH	
	Santa Cruz	0,9	PCR	Mekata et al., 2009

¹ RIFI (reação de imunofluorescência indireta), *Buffy coat* realizado de acordo com Murray et al. (1977), TCH (técnica de centrifugação de hematócrito) de acordo com Woo (1969); * Surto.

Na Colômbia, Wells et al. (1970) detectaram *T. vivax* em cinco de 37 fazendas amostradas utilizando um ou mais métodos diagnósticos. Ademais, esses autores não identificaram infecções em locais acima de 1.000 metros de altitude, excetuando-se quando animais haviam sido importados. Nesse país a infecção está principalmente associada a áreas pantanosas de baixa altitude (Wells et al., 1970; Otte et al., 1994). Em geral, as hemoparasitoses são

amplamente difundidas em zonas localizadas abaixo de 2.200m de altitude na Colômbia, onde a umidade relativa e a temperatura favorecem a multiplicação dos vetores e, conseqüentemente, a disseminação de hemoparasitos. Nesse caso, *T. vivax* é um dos que causa grande impacto econômico devido à sua ampla distribuição geográfica e perdas pela alta morbidade e mortalidade, especialmente em surtos agudos (García et al., 1992).

Wells et al. (1982) identificaram a presença de anticorpos detectados por RIFI em departamentos da Colômbia, variando entre 0 e 18,8%, o que representou 50% das áreas tropical e subtropical do país e 75% das principais áreas de criação de bovinos. Considerando-se apenas os rebanhos testados na região do Vale Cauca, houve uma variação de 0 a 83,3% de animais soro reagentes por propriedade, com média de 51%, enquanto nas Planícies Orientais, a variação foi de 5 a 95%, com média de 47%. Isto faz com que, no país, a tripanossomose assumia um caráter endêmico (Wells et al., 1982). Mais tarde, Otte et al. (1988) realizaram a incidência parasitológica mensal de tripanossomose bovina pela TCH e observaram uma variação de 0 a 61,5%. Em uma situação de surto relatado por Mateus e Gonzalez (1991), 29,8% dos animais ficaram doentes, dos quais 15,3% morreram e 7,2% abortaram. No departamento de Córdoba, a soroprevalência média por RIFI foi 46,2%, com variação de 36,6% a 76,9% entre municípios, enquanto a prevalência parasitológica foi 2,7%, com variação entre 0 e 24% (García et al., 1992). Em um estudo realizado entre 1982 e 1989 nas planícies da costa Atlântica da Colômbia, Otte et al. (1994) mostraram que *T. vivax* estava amplamente disseminado (2,75% dos bovinos examinados pela TCH, com variação de 0 a 24%). No entanto, os autores relataram que o parasito se encontrava distribuído de maneira desuniforme na área, com incidência variando de transmissão esporádica a epidemias localizadas, na qual todos os animais susceptíveis se tornavam infectados dentro de três meses.

Na Venezuela, prevalência parasitológica (esfregaços sanguíneos e de linfonodo) de 10-15% foi encontrada por Clarkson et al. (1971). No final da década de 90, um estudo realizado em duas unidades agroecológicas do vale de Aroa demonstrou uma soroprevalência em cada unidade de 36,4% e 40,2%, perfazendo uma prevalência geral de 38,2% de bovinos soro reagentes (Sandoval et al., 1998). Em um município do estado de Carabobo, verificou-se uma soropositividade de 39,5% para *T. vivax* utilizando-se o ELISA (González e Meléndez, 2007). Suárez et al. (2009) trabalharam em 49 fazendas de várias regiões da Venezuela e verificaram uma soropositividade geral de 33,1% e uma taxa de infecção ativa de 5,9%. Adicionalmente, no mesmo ano, Simoes et al. (2009) registraram um surto de *T. vivax* em uma fazenda do estado de Zulia no início das chuvas, apenas 12 dias após a introdução de bovinos provenientes da Colômbia na ausência de controles sanitários para a doença. Neste surto, o alto nível de prevalência parasitológica, 77%, foi acompanhado por mortalidade de 15,15%. Prevalências de infecções ativas por *T. vivax* na Venezuela foram 0,83% em Apure, 8,47% em Aragua, 16,66% em Barinas, 17,5% em Cojedes e 24,03% em Guárico, com média de 18,43% e variação entre fazendas de 0 a 93,47%. Nesse estudo, a soroprevalência total foi 85,76% nas 20 fazendas amostradas, com valores entre 57,62% e 100% (Agudo et al., 2009).

No estado de Guárico, Venezuela, Aray et al. (1998) observaram soroprevalência de 14%, com variação de 0 a 33%. Já Tamasaukas et al. (2002) identificaram soroprevalência geral de 60%. Tamasaukas et al. (2014) relataram uma frequência de animais positivos pela TCH de 0,87% e utilizando-se esfregaço sanguíneo de 2,68%, enquanto a soroprevalência por ELISA foi 54,67%. Por fim, Uzcanga et al. (2016), utilizando ELISA com antígeno de *T. equiperdum* verificou prevalência aparente de 37,7% em bovinos de corte nesse estado.

Avaliando-se búfalos, na Venezuela, 6,33% dos animais foram positivos no esfregaço sanguíneo, 11,39% pela TCH e 18,98% pela PCR (García, et al., 2003). Já García et al. (2006) relataram 6,2% de animais positivos pela TCH e 30,4% com anticorpos anti-*T. vivax*, com variação de 10% a 54% entre as fazendas. A maioria dos búfalos infectados por tripanossomas na Venezuela possuem baixas parasitemias, indicativo de infecções crônicas (García et al.,

2006). Soroprevalência de 29,5% no estado de Guárico durante o período chuvoso foi observada em bubalinos por Tamasaukas et al. (2006). Mais recentemente, Bethencout et al. (2013), processaram soros de 180 búfalos sem sinais clínicos da doença e obtiveram prevalência de 45,56% utilizando ELISA, enquanto por RIFI, a prevalência foi 28,89%, com valor preditivo positivo e negativo de 52,44% e 90,82%, respectivamente.

No Paraguai a doença ocorreu na sub-região do Pantanal cinco meses após o primeiro relato da doença no Pantanal brasileiro, em dezembro de 1995 (Silva et al., 1998a) e no início de 1996 os primeiros casos foram relatados na Bolívia (Silva et al., 1998b), com a ocorrência de até 40% de mortalidade (Seidl et al., 1999). Em um estudo realizado na província Germán Busch, Bolívia, 45% dos 80 bovinos examinados foram positivos à TCH e cerca de 50 animais de 1.000 morreram, representando uma mortalidade de 5% (Silva e Dávila, 2001). A positividade de animais para *T. vivax* foi 25,54% e 17,7% via PCR, enquanto 12,38% e 2,35% dos animais foram positivos pela TCH nas províncias Angel Sandoval e Germán Busch, respectivamente. Tais achados sugerem que a situação na província Germán Busch era de caráter crônico, enquanto em Angel Sandoval, infecções ativas estiveram mais presentes. Ademais, a prevalência de rebanho foi 76,92%, com prevalência média dentro do rebanho de 28,21% em Angel Sandoval, variando de 0 a 73,68%; já em Germán Busch, a prevalência de rebanho foi 75% e a média da prevalência dentro do rebanho foi 18,1%, variando de 0 a 60% (Gonzales et al., 2007). Porém em Santa Cruz, a prevalência de *T. vivax* pela PCR foi 0,9% (Mekata et al., 2009). De acordo com Gonzales et al. (2007), a doença tem sido um limitante na produção de bovinos nas planícies bolivianas desde quando foi introduzida no país.

Bovinos localizados permanentemente próximos a áreas pantanosas usualmente sobrevivem a episódios clínicos quando bezerros, permanecem como portadores da infecção, mas apresentam parasitemias sob condições de estresse, enquanto animais infectados pela primeira vez quando adultos apresentam síndrome aguda ou subaguda (Wells et al., 1970). Isso também foi observado por Otte et al. (1994), que relataram que quadros clínicos eram raros em rebanhos nos quais *T. vivax* era endêmico, porém bezerros infectados apresentaram alterações subclínicas, com redução de VG e menor ganho de peso, não sendo observado ganho de peso compensatório. De acordo com Gonzales et al. (2007), áreas inundadas semelhantes ao Pantanal boliviano tem um ambiente aceitável para a presença e transmissão de tripanossomas Salivaria. A existência de mata na fazenda não foi significativamente correlacionada à presença de infecção (Otte et al., 1994). Porém, a contaminação da fauna deve ser considerada, tendo em vista a ampla fauna de ungulados da região que tem contato com os ruminantes domésticos, atuando como potenciais reservatórios (Silva et al., 1998ab; Silva et al., 2006).

Na Colômbia, avaliando-se a incidência parasitológica mensal, observou-se que a maior incidência ocorreu no final do período chuvoso, coincidindo com o maior número de tabanídeos (Otte et al., 1988). No entanto, Mateus e Gonzalez (1991), diante de um surto nesse país atribuiu a sua ocorrência à seca mais intensa e prolongada que ocorrera na região. Porém Otte et al. (1994) não observaram interferência da estação e da densidade animal à presença de infecção. Já na Venezuela, Espinoza et al. (1999) observaram uma maior frequência de anticorpos anti-*T. vivax* nos meses da época seca, sendo justificada pela concentração dos rebanhos devido à escassez de forragem e água. Porém em outro estudo não foram observadas diferenças significativas entre as épocas seca e chuvosa, confirmando o caráter endêmico da doença na região avaliada (Tamasaukas et al., 2002). Gardiner (1989) relatou ocorrer uma associação temporal entre o período chuvoso, quando moscas hematófagas e tabanídeos são abundantes, e um aumento na prevalência de infecções por *T. vivax* em bovinos. Nas planícies do departamento de Santa Cruz, Bolívia, a época das chuvas representa o período de maior risco de transmissão de tripanossoma por esses insetos (Silva et al., 1998ab). Adicionalmente, na Guiana Francesa, não foram observadas variações sazonais frente à tripanossomose bovina (Desquesnes e Gardiner, 1993).

Segundo Desquesnes e Gardiner (1993), a variação na soroprevalência depende da abundância de vetores. A presença de alta população de moscas hematófagas e tabanídeos foi observada em um surto de tripanossomose bovina na Colômbia (Mateus e Gonzalez, 1991). Neste país, Otte et al. (1994) relataram que as infecções por *T. vivax* estão associadas à presença de tabanídeos. De acordo com esses autores, o risco para a transmissão do agente foi 1,6 vezes mais alto em rebanhos que relataram problemas com moscas comparado a rebanhos na ausência desse fator. As províncias bolivianas nas quais animais se apresentaram doentes eram áreas de alto desafio de moscas, inclusive de tabanídeos (Silva et al., 1998ab). Em um surto na Costa Rica, relacionou-se a sua ocorrência ao aumento considerável de moscas hematófagas, pois a região é produtora de abacaxi, e devido ao manejo inadequado do seu resíduo, a população de *Stomoxys calcitrans* foi alta (Oliveira et al., 2009). Com isso, a impossibilidade de controlar os insetos hematófagos contribui para a disseminação do parasito (Quispe et al., 2003; Agudo et al., 2009).

A disponibilidade de alimento tem influência sobre a prevalência da doença (Desquesnes e Gardiner, 1993). Um dos fatores de um surto na Costa Rica foi a redução na disponibilidade e qualidade das pastagens (Oliveira et al., 2009). A baixa condição corporal pode permitir a existência de infecções subclínicas (Quispe et al., 2003), contribuindo para a alta prevalência parasitológica (Agudo et al., 2009). Uma correlação negativa pode ser observada entre escore corporal e a positividade para tripanossomose bovina, ou seja, quanto menor o escore corporal, maior a positividade dos animais (Gonzales et al., 2007). Além disso, estresses da gestação e da lactação podem ser considerados fatores de risco (Mateus e Gonzales, 1991).

De acordo com um questionário aplicado aos veterinários colombianos por Wells et al. (1970), a infecção é associada ao movimento de bovinos em direção a pântanos permanentes, tendo em vista que durante o período seco do ano os animais ficam agregados em áreas pantanosas, onde é fonte de água e alimento, tornando-se infectados. Segundo Otte et al. (1994), a chance de tripanossomose é três a quatro vezes mais alta em rebanhos próximos aos pântanos e duas vezes mais alta em rebanhos próximos a um rio. O movimento e comércio de gado sem o adequado controle sanitário entre regiões e países da América do Sul, onde a tripanossomose é enzoótica, constitui atualmente um fator de risco fundamental para o aparecimento de surtos de *T. vivax* e para a ampla disseminação geográfica que esta enfermidade tem sido diagnosticada (Simoes et al., 2009). No Peru, um distrito que apresentou quase 100% dos animais infectados consistia em uma das zonas de maior comércio de gado vivo (Quispe et al., 2003). Na Bolívia, cerca 180.000 cabeças de gado, principalmente oriundas do Pantanal brasileiro, onde já havia sido relatado caso da doença foram importadas do Brasil, levando ao surgimento dos primeiros casos (Silva et al., 1996). Adicionalmente, um dos principais fatores de risco relacionados à transmissão do *T. vivax* nos Pantanaís boliviano e brasileiro consiste no transporte de bovinos a pé (Silva et al., 2006). Além disso, a introdução de animal potencialmente infectado no rebanho consiste em um fator de risco (Desquesnes e Gardiner, 1993).

Wells et al. (1970) observaram que a maioria dos animais que se infectavam com *T. vivax* ocorria no segundo ano de vida. Para Mateus e Gonzalez (1991), em um surto da doença na Colômbia, todos os animais doentes tinham mais de 18 meses e entre os mortos, a maioria era vaca em lactação. García et al. (1992) observaram que as taxas de infecção variaram com a idade, com 50,9% de animais soropositivos de um a seis meses e de 42% daqueles com idade superior a 24 meses. Na Venezuela, animais adultos apresentaram maior prevalência sorológica comparada a animais com menos de 18 meses de idade em uma das unidades agroecológicas (Sandoval et al., 1998). Ademais, a soropositividade foi superior em novilhas, novilhos e bezerros desmamados, 61,5%, 48,4% e 46,3%, respectivamente, comparados aos valores obtidos por touros, vacas e bezerros, 25%, 22,1% e 23,3%, respectivamente (González e Meléndez, 2007). Em geral, idades mais avançadas são consideradas fator de risco na Venezuela (Suárez et al., 2009). No entanto, alguns estudos em bovinos (Tamasaukas et al., 2002) e em búfalos, (Tamasaukas et al., 2006) não relacionaram a idade à positividade dos animais.

Na Venezuela, Sandoval et al. (1998) não observaram diferenças entre animais de diferentes tipos de exploração. Porém García et al. (2003) relataram que em explorações extensivas a transmissão é estreitamente associada à presença de hospedeiros silvestres, os quais atuam como reservatórios, mantendo níveis mínimos de parasitemia, sem apresentar a forma clínica da doença. Já em um estudo realizado por González e Meléndez (2007), a soropositividade foi superior nas fazendas de engorda (43,3%) e cria (50%) comparadas a explorações leiteiras (29,4%) e mistas (37,5%). A introdução de animais para engorda, procedentes de outros estados podem contribuir para a maior soroprevalência em fazendas de gado de corte (González e Meléndez, 2007). Além disso, segundo Suárez et al. (2009), a exploração de corte e o manejo semi-intensivo são considerados fatores de risco. A infecção por *T. vivax* pode ser facilitada pelo manejo sanitário deficiente (uso de mesma agulha para vários animais), contribuindo para a ocorrência de casos subclínicos (Quispe et al., 2003), ou mesmo com altas parasitemias (Agudo et al., 2009).

Ao ver dos veterinários da Colômbia, bovinos das raças Holandês e Pardo Suíço importados foram mais susceptíveis à tripanossomose que os animais Crioulos e Zebu (Wells et al., 1970). De acordo com Mateus e Gonzalez (1991), os casos clínicos de um surto nesse país, assim como os animais mortos pertenceram, em sua maioria, a bovinos *Bos taurus*. No entanto, Otte et al. (1994) não verificaram relação entre tipos de bovinos. Na Venezuela, animais com alto grau de sangue Pardo Suíço apresentaram soroprevalência superior aos animais com predomínio de sangue Holandês e Zebu (Sandoval et al., 1998). Porém, Suárez et al. (2009) concluíram que bovinos zebuínos consistiam em um fator de risco para a doença. Achados similares foram observados na Guiana Francesa por Desquesnes e Gardiner (1993), os quais observaram que a soroprevalência para tripanossomose bovina foi superior em animais cruzados com Zebu (31%) comparado a animais europeus (9%). Esses autores verificaram, inclusive, que entre animais de raças europeias, os bovinos leiteiros tiveram maior soroprevalência (50%) em comparação ao gado de corte (9%).

A frequente utilização de drogas tripanocidas nos últimos anos pode influenciar nas prevalências dos estudos além das variações nas amostragens (Desquesnes e Gardiner, 1993; González e Meléndez, 2007). Suárez et al. (2009) concluíram que a ausência de aplicação de drogas tripanocidas é um fator de risco para a tripanossomose bovina na Venezuela. Tamasaukas et al. (2014) observaram que a soroprevalência de bovinos foi superior em animais que não receberam o tratamento com drogas tripanocidas.

Contrariamente a alguns trabalhos africanos, diferenças entre sexo na ocorrência de tripanossomose em bovinos não tem sido observadas na Venezuela (Sandoval et al., 1998; Tamasaukas et al., 2002; Suárez et al., 2009) e no Peru (Tafur et al., 2002). Em búfalos na Venezuela, apesar de 75% dos animais positivos terem sido fêmeas em um estudo realizado por Tamasaukas et al. (2006), não foram observadas diferenças entre machos e fêmeas.

O baixo VG de animais quando negativos pode estar relacionado a parasitos gastrointestinais, outros hemoparasitos, assim como deficiências nutricionais (Quispe et al. 2003). Anemia e leucopenia foram os principais sinais de bovinos com tripanossomose no Pantanal brasileiro e Pantanaís bolivianos e pode ser a principal causa de mortalidade de animais infectados pelo parasito (Silva et al., 2006). Em uma província boliviana, correlação negativa do VG e a positividade dos animais foi observada (Gonzales et al. 2007). No entanto, na Venezuela, Agudo et al. (2009) não observaram associação do VG e a presença de *T. vivax*. Já em búfalos positivos para *T. vivax*, o VG foi inferior comparado a animais negativos (García et al., 2006).

A América Latina, por conseguinte, apresenta a tripanossomose como importante doença para os rebanhos bovinos e bubalinos, atingindo grande extensão entre os países latino americanos. Além disso, condições específicas ligadas à transmissão mecânica, às regiões pantanosas, onde há facilidade de manutenção dos vetores, e ao comércio de animais se destacam na ocorrência da doença nas Américas.

4. Aspectos epidemiológicos da tripanossomose bovina no Brasil

No Brasil, a situação epidemiológica, com exceção das regiões Norte e do Pantanal, onde a doença tem caráter endêmico, é dada, em sua maioria, pelo relato de surtos ou de trabalhos epidemiológicos bastante pontuais (Tabela 4), revelando a carência de estudos epidemiológicos mais consistentes que possam auxiliar no conhecimento da doença em nosso meio. Conforme descrito anteriormente, o primeiro registro oficial de tripanossomose por *T. vivax* no Brasil ocorreu em na região Norte do país em 1972, quando Shaw e Lainson relataram a ocorrência da doença em búfalos criados nas proximidades de Belém-PA, identificando-se infecção caracterizada por parasitemias baixas e cíclicas. Posteriormente, Pereira e Abreu (1978), relataram a ocorrência de tripanossomas no esfregaço sanguíneo de bovinos e ovinos de propriedades localizadas em municípios dos estados do Pará e do Amapá. Em 2006, Linhares et al. relataram a infecção por *T. vivax* em bovinos da raça Brahman no estado do Tocantins. Ainda na região Norte, uma pesquisa epidemiológica mostrou a presença de anticorpos específicos para *T. vivax* nas diferentes regiões do Pará, com variação de 18,9% a 69,3% (Madruga et al., 2006). Outro estudo sorológico, realizado no Nordeste do Pará, demonstrou que, em média, 93,1% das vacas examinadas eram soropositivas para *T. vivax* (Guedes Júnior et al., 2008).

Tabela 4. Prevalência da tripanossomose bovina em alguns estados do Brasil e os respectivos testes diagnósticos.

ESTADO	PREVALÊNCIA (%)	TESTE ¹	REFERÊNCIA
Pará	30,7	ELISA	Madruga et al., 2006
	93,1	ELISA	Guedes Júnior et al., 2008
Mato Grosso	54	RIFI	Wells et al., 1977
	34,5*	TCH	Silva et al., 1998a
	56	ELISA	Madruga et al., 2006
	49,2* (vacas) 32* (bezerros)	<i>Buffy coat</i>	Batista et al., 2007
Paraíba	30 a 41,7*	<i>Buffy coat</i>	Batista et al., 2008
	13,3 a 46,6* (vacas)	<i>Buffy coat</i>	Batista et al., 2012
	63,3 a 80* (bezerros)		
	0	RIFI	Costa et al., 2013
Maranhão	0 a 3,39	<i>Buffy coat</i>	Melo et al., 2011
	1,06 a 6,21	PCR	
Pernambuco	27,5*	Clínico	Pimentel et al., 2012
	13,93	RIFI	Guerra et al., 2013
Minas Gerais	35,7*	PCR	Cuglovici et al., 2010
	7,4 a 47*	RIFI	
	16,2	RIFI	Frangé, 2013
	50*	TCH	
São Paulo	98,36*	ELISA	Cadioli et al., 2012

¹ RIFI (reação de imunofluorescência indireta), TCH (técnica de centrifugação de hematócrito) realizada conforme Woo (1969); *Buffy coat* realizado de acordo com Murray et al. (1977); *Surto.

Na região Centro-Oeste do Brasil, apesar de na segunda metade da década de 70, um levantamento sorológico realizado no então estado de Mato Grosso já demonstrava que mais da metade da população apresentava anticorpos contra *T. vivax* (Wells et al., 1977), apenas em 1995 foi realizada a identificação de *T. vivax* no Pantanal da região de Poconé, estado de Mato Grosso, fronteira com a Bolívia e o Paraguai, com dez dos 29 animais (34,5%) avaliados pela TCH positivos para *T. vivax* (Silva et al., 1996; Silva et al., 1998a). Os surtos se estenderam também ao Pantanal Sul-Mato-Grossense (Paiva et al., 1997). Surtos de tripanossomose no Pantanal podem ser esporádicos e em algumas regiões pode ocorrer em alta frequência (Dávila e Silva, 2000). Após o primeiro registro de *T. vivax* em bovinos criados no Pantanal do Mato Grosso do Sul, Paiva et al., (2000) acompanharam clínica e laboratorialmente cinco propriedades para tal agente, mas apenas duas delas tinham animais com o parasito, mesmo com os achados clínicos e anátomo e histopatológicos não serem condizentes com a infecção por *T.*

vivax, sendo a morbidade e a mortalidade observadas em tais propriedades causadas por outros agentes. Há dez anos um estudo soropidemiológico no Pantanal Mato-Grossense revelou soroprevalências de 28,1% a 71,9%, com valores médios de 56% (Madruga et al., 2006). Mais recentemente, em surtos em propriedades leiteiras dos estados de Mato Grosso (Bastos et al., 2013) e Goiás (Barbosa et al., 2015), observou-se a presença do parasito.

No Nordeste do Brasil, o primeiro relato de tripanossomose bovina ocorreu em uma propriedade do semiárido da Paraíba, em 2002, sucedendo na forma de surto, com acometimento de 49,2% das vacas e uma taxa de letalidade de 17,2%, sendo 100% entre animais que apresentaram sinais nervosos. Dentre os bezerros, 32% foram afetados e a letalidade foi 15,6%. Estes achados permitiram concluir que a região semiárida não era endêmica para tripanossomose (Batista et al., 2007). Em 2008, Batista et al. relataram dois surtos na Paraíba, um dos quais 47,2% das vacas apresentavam anemia e, na ocasião, chamou-se a atenção para a possibilidade de a enfermidade se encontrar disseminada no sertão do estado (Batista et al., 2008). Posteriormente, uma pesquisa realizada em dois momentos, com intervalo de cinco meses, para averiguar causas de mortalidade e abortos em pequenos ruminantes no semiárido paraibano revelou na primeira coleta 29,7% dos caprinos e 25,4% dos ovinos positivos no *buffy coat* e em seguida 21,5% e 19,2% em caprinos e ovinos, respectivamente. Animais com doença aguda e intensa, apresentando altas parasitemias e hematócritos baixos, que muitas vezes, resultou em morte, foram detectados apenas no primeiro momento, enquanto na segunda coleta, os animais apresentaram baixa parasitemia e hematócritos normais (Batista et al., 2009). A real prevalência de *T. vivax* nos animais dessas propriedades pode ter sido maior, pois os portadores crônicos possuem parasitemias não detectáveis ao *buffy coat* (Madruga, 2009). Outro estudo conduzido na Paraíba demonstrou que 63,3% a 80% dos bezerros de três fazendas amostradas apresentavam *T. vivax* no *buffy coat*. Além disso, a mortalidade variou de 15 a 30% e a letalidade de 23 a 37,5%. Nas vacas, a frequência de animais positivos foi inferior (13,3-46,6%), assim como a mortalidade (máximo 6,5%), sugerindo que as vacas são mais resistentes e as infecções crônicas não foram detectadas pelo *buffy coat* (Batista et al., 2012). No entanto, o parasito parece não estar disseminado nesse estado, tendo em vista que Costa et al. (2013) não tiveram evidência sorológica em bovinos de 37 fazendas do semiárido.

No Maranhão, o primeiro caso de infecção por *T. vivax* foi registrado em 2003, em um bezerro, no qual o parasito foi identificado em esfregaço sanguíneo (Guerra et al., 2008). De acordo com Madruga (2009), a proximidade geográfica do estado do Pará e das condições climáticas, sugere que o Maranhão também deve apresentar uma ampla difusão do parasito, com uma população significativa de animais portadores. Porém em um estudo realizado nesse estado, na ilha de São Luís-MA, apenas 1,06% dos animais amostrados apresentaram-se positivos na PCR e na região da base de Pedreiras, 3,39% dos animais foram positivos no exame parasitológico (*buffy coat*) e 6,21% na PCR, sugerindo que *T. vivax* não parece ser endêmico no Maranhão (Melo et al., 2011). Ademais, em Pernambuco, o primeiro relato de tripanossomose bovina por *T. vivax* foi realizado por Pimentel et al. (2012), no qual 27,5% dos bovinos apresentaram sinais clínicos compatíveis com a doença, porém o diagnóstico parasitológico foi confirmado em apenas 9,09% dos animais afetados, apesar de todos eles mostrarem-se positivos pela PCR. Em um levantamento sorológico realizado em todo o estado de Pernambuco, 13,93% dos animais amostrados foram positivos, sem diferenças entre as regiões (Guerra et al., 2013).

Na região Sudeste, segundo comunicação pessoal de Paes, em 2004, esfregaços sanguíneos de bovinos do Espírito Santo continham formas tripomastigotas de *T. vivax*. No entanto, o primeiro relato oficial da ocorrência de *T. vivax* nessa região foi realizado por Carvalho et al. (2008), no estado de Minas Gerais, em uma vaca oriunda do município de Igarapé. Na sequência, Cuglovici et al. (2010) avaliaram a situação epidemiológica de tripanossomose bovina causada por *T. vivax* no rebanho de origem dessa vaca e verificaram que durante um ano e meio de estudo 25 animais foram positivos na TCH e na PCR entre, em média, 70 animais avaliados em cada coleta. Além disso, a soroprevalência variou de 7,4% no início do monitoramento a 48%

no final. Anticorpos anti-*T. vivax* em animais que não apresentaram sinais clínicos e/ou foram negativos ao exame parasitológico sugeriu a ocorrência da doença subclínica, podendo estar relacionada à resposta do sistema imune de alguns animais ou à baixa virulência do isolado. Um estudo soropidemiológico e um relato de um surto foram recentemente descritos na microrregião de Uberaba, revelando soroprevalência de 16,2% entre as 327 amostras processadas por RIFI e 50% de positividade em 16 amostras sanguíneas submetidas a testes parasitológicos durante um surto (Frange, 2013). Em Lins, São Paulo, um surto de *T. vivax* em bovinos leiteiros foi descrito como o primeiro relato da ocorrência desse parasito no estado, com mortalidade de 2,9%. Além disso, amostras de soro de 599 animais foram testadas por ELISA e 98,36% delas apresentavam títulos positivos anti-*T. vivax* (Cadioli et al., 2012). Porém, anterior a esse surto, uma vaca já havia sido diagnosticada em Araçatuba-SP utilizando *imprints* de linfonodos à necropsia (Salgado et al., 2011).

A região Sul do Brasil teve o primeiro caso registrado de infecção por *T. vivax* em bovinos no estado do Rio Grande do Sul, onde o protozoário foi diagnosticado em esfregaço sanguíneo de uma vaca que apresentou sinais clínicos compatíveis com a forma nervosa da doença (Silva et al., 2009). Além disso, Silva et al. (2011) relataram um surto de infecção por *T. vivax* em equinos em Caçapava do Sul-RS. Na ocasião, 12 cavalos foram avaliados, dos quais quatro desenvolveram sinais clínicos, tais como palidez de mucosas, febre, perda de peso e inchaço do abdômen, prepúcio ou vulva.

Em se tratando dos fatores que levaram à ocorrência da doença nas diversas regiões do Brasil, acredita-se que a entrada e a difusão do parasito na região do Pantanal ocorreu na segunda metade dos anos 90, podendo estar relacionada ao intenso comércio de gado após a abertura de rodovias interligando as regiões Norte e Centro-Oeste (Dávila e Silva, 2000; Jones e Dávila, 2001; Madruga, 2009). O comércio de bovinos no Pantanal aumentou consideravelmente, causando grande movimento de animais entre propriedades. Após uma visita da FAO no Brasil, Bolívia e Paraguai em 1998 para avaliar a situação de *T. vivax* em tais países, houve consenso de que o principal fator provável de disseminação da doença era o movimento de animais, mais que o movimento de vetores ou de reservatórios silvestres (Dávila et al., Silva, 2000). Os sistemas de produção dos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul concentra as fases de cria e recria de bovinos na região do Pantanal. No entanto, a fase de engorda ou de recria, em algumas ocasiões, é feita no planalto desses estados ou em fazendas de engorda de outros estados como Goiás, São Paulo e Paraná. Isto permite que bovinos portadores cheguem a outras áreas (Madruga, 2009), sendo potenciais transmissores da doença. Surtos da doença registrados por Pereira e Abreu (1978) em bovinos e ovinos, incluindo alta morbidade e mortalidade variada, coincidiu com a chegada de animais às propriedades. Em Barra do Garças-MT, numa propriedade de alta tecnificação, ocorreu após a aquisição de 200 fêmeas bovinas das raças Holandês e Girolando, provenientes de Goiás, Mato Grosso e Minas Gerais, desencadeando a morte de 19 animais em um período inferior a quatro semanas (Bastos et al., 2013). Similarmente, em Goiás um surto foi associado à aquisição de animais de origem desconhecida 16 dias antes do início dos sinais clínicos apresentado pelos animais (Barbosa et al., 2015).

Em dois surtos na Paraíba, um deles havia coincidência com um período no qual o pasto da propriedade foi alugado e estavam presentes animais provenientes de uma fazenda onde Batista et al. (2007) já havia identificado o parasito. No outro surto, relatou-se a permanência de alguns animais por alguns meses em um pasto vizinho à propriedade onde ocorreu o primeiro surto e a doença ocorreu após o retorno desses animais à propriedade de origem (Batista et al., 2008). Outros surtos identificados na Paraíba tiveram como o fator mais importante a introdução de animais de rebanhos onde *T. vivax* já havia sido relatado (Batista et al., 2012). No Maranhão, *T. vivax* foi introduzido provavelmente por bovinos infectados originados de áreas onde o parasito é comum (Melo et al., 2011). Em Pernambuco, o trânsito de animais cronicamente infectados (bovinos, búfalos ou pequenos ruminantes) de regiões de ocorrência para regiões livres pode ter influenciado no surto da doença (Pimentel et al., 2012).

Um surto da doença no Tocantins coincidiu com a introdução de animais oriundos de São Paulo seis meses antes, demonstrando o risco em situações que envolvem o movimento de bovinos susceptíveis de áreas até então livres, como São Paulo, para áreas potencialmente enzoóticas, como o estado do Tocantins, onde o parasito provavelmente circulava ativamente em hospedeiros silvestres (Linhares et al., 2006). Em São Paulo, o primeiro relato da doença foi de um surto em Lins, onde vacas que foram criadas em uma fazenda no Mato Grosso do Sul e que haviam chegado um mês antes na propriedade do interior de São Paulo se tornaram doentes e posteriormente animais da própria fazenda adoeceram (Cadioli et al., 2012). Na microrregião de Uberaba-MG, o trânsito de animais é intenso devido às grandes exposições, portanto existe a facilidade de entrada de animais infectados, com consequente estabelecimento da doença (Frange, 2013). Já no Rio Grande do Sul, Silva et al. (2009) atribuíram a ocorrência de um caso de tripanossomose bovina a hospedeiros silvestres, tendo em vista que nenhum animal havia sido introduzido na propriedade nos dois anos anteriores ao caso.

No Pantanal, durante a época de inundação, que dura 5-6 meses, há uma redução na área disponível para os animais de forma que tanto animais domésticos quanto silvestres procuram áreas secas, permitindo uma maior interação entre animais e vetores (Dávila e Silva, 2000) e consequentemente aumentando a prevalência no período chuvoso. Adicionalmente, nesse período do ano há aumento da população de tabanídeos, proporcionando uma taxa de infecção mais elevada (Dávila et al., 2003). A maioria dos animais infectados em um surto da doença no Pantanal tornaram-se doentes na primeira metade da época das chuvas, a qual representa o maior risco de transmissão devido ao grande número de insetos hematófagos (Silva et al., 1996). No entanto, na tentativa de verificar a dinâmica de infecção do *T. vivax*, um estudo epidemiológico foi realizado no Pantanal Sul-Mato-Grossense, os animais foram considerados tripanotolerantes, pois foram observadas parasitemias ao exame parasitológico e PCR apenas no início do experimento, mesmo no período seco do ano, quando o teste ELISA indicou maior incidência de *T. vivax* (Martins et al., 2008). Uma possível justificativa estaria relacionada às condições das pastagens, que são de menor qualidade no período seco (Madruga, 2009).

Na região de um surto relatado no Tocantins, situada numa faixa equatorial com altas temperaturas ambiente e elevados índices pluviométricos (Linhares et al., 2006), há o favorecimento da instalação e manutenção de vetores (Paiva et al., 2000). Já no semiárido nordestino, caracterizado por períodos prolongados de secas e altas temperaturas, o ambiente é desfavorável para o desenvolvimento de vetores durante a maior parte do ano, o que pode levar à ocorrência de surtos da doença (Batista et al., 2008). Na Paraíba, surtos iniciaram durante o período chuvoso, que coincidiu com aumento na população de vetores, facilitando a transmissão mecânica (Batista et al., 2012). A alta frequência de animais soropositivos no Norte do Brasil foi atribuída à transmissão mecânica, principalmente por tabanídeos, indicando que esse hematozoário é prevalente em rebanhos dessa região (Guedes Júnior et al., 2008). Ademais, a presença difusa da mosca dos chifres pode estar relacionada à disseminação da doença no Pantanal brasileiro (Madruga, 2009). No Rio Grande do Sul, a área onde foi encontrado um caso de tripanossomose bovina é propícia ao desenvolvimento de tabanídeos e outras moscas hematófagas, especialmente ao redor de um rio que passa pela propriedade (Silva et al., 2009).

Na Paraíba, um surto ocorreu devido à introdução do parasito em uma população susceptível após um aparente aumento na população de tabanídeos (Batista et al., 2007). Ademais, Batista et al. (2008), ao relatarem a ocorrência de mais dois surtos na Paraíba, revelaram que a grande população de tabanídeos e de *Stomoxys* spp. fez parte da ocorrência da doença. Adicionalmente, durante um surto em pequenos ruminantes no sertão paraibano, os animais pastaram juntos com bovinos às margens de represas com água, onde foram observados grandes quantidades de insetos hematófagos (Batista et al., 2009). Porém, a ausência de vetores nessa região pode implicar em barreiras ecológicas para a disseminação de *T. vivax* (Costa et al., 2013). No Maranhão, de acordo com Melo et al. (2011) há condições para boa multiplicação dos vetores, que podem disseminar o parasito, especialmente devido à susceptibilidade dos animais ali

presentes. Em Pernambuco, a alta densidade de moscas hematófagas na região costeira do estado pode ter facilitado a disseminação do *T. vivax* durante o surto ocorrido nessa região (Pimentel et al., 2012). Isto também foi observado durante um surto da doença em Minas Gerais (Cuglovici et al., 2010) e em São Paulo (Cadioli et al., 2012). Neste estado, o surto ocorreu numa época de baixa pluviosidade, porém havia *Haematobia irritans* e *Stomoxys calcitrans* em grande quantidade, possivelmente devido ao uso de resíduos de usinas de açúcar e álcool nos canaviais ao redor da propriedade. Similarmente, um dos fatores que permitiram a ocorrência de um surto ao redor de Uberaba-MG foi o aumento de moscas em função do uso de subprodutos de usina na região (Frange, 2013).

O uso de uma agulha para diversos animais durante campanhas de vacinação pode auxiliar na disseminação de *T. vivax* (Dávila e Silva, 2000), porém a sua contribuição é desconhecida (Jones e Dávila, 2001). Em um estudo soroepidemiológico realizado no Triângulo Mineiro, entre as propriedades positivas, 80% não trocavam agulhas entre os animais para a administração de medicamentos e vacinas, 15% trocavam a cada 10 animais e 5% realizavam desinfecção (Frange, 2013). Surtos ocorridos em Mato Grosso (Bastos et al., 2013) e em Goiás (Barbosa et al., 2015), foram relacionados à administração diária de ocitocina em vacas, via intravenosa, anterior à ordenha, para auxiliar na ejeção do leite, empregando-se a mesma agulha e seringa para todos os animais. Além disso, a transmissão transplacentária foi sugerida por Batista et al. (2012), os quais encontraram quatro bezerros com idades entre um e três dias apresentando alta parasitemia.

A resposta da terapia com aceturato de diminazeno é variável há quase 40 anos (Pereira e Abreu, 1978). Linhares et al. (2006) relataram sucesso em alguns bovinos tratados com diminazeno na dose de 3,5mg/kg. Em um surto no Pantanal Mato Grossense, a utilização de aceturato de diminazeno se mostrou eficaz para a cura dos animais doentes (Silva et al., 1996). Já na Paraíba, animais doentes se recuperaram após a administração de 5mg/kg da droga, mas apresentaram recidiva (Batista et al., 2007). Em outra ocasião, bezerros foram tratados com 5mg/kg de aceturato de diminazeno e seis meses após nenhum deles apresentou parasitemia, enquanto em outra propriedade que não realizou o tratamento a frequência de bezerros positivos foi 81,82%, com mortalidade de 12,73% e letalidade de 15,55%, similar a seis meses antes (Batista et al., 2008). Em ovinos e caprinos, durante um surto no sertão desse estado, nenhum animal infectado foi tratado e a maioria se recuperou espontaneamente, desenvolvendo doença crônica, que pode desempenhar um papel importante como portadores de *T. vivax* (Batista et al., 2009). Já em equinos, o tratamento com 3,5mg/kg de aceturato de diminazeno não levou à cura, havendo recidivas e morte de três dos quatro animais diagnosticados (Silva et al., 2011). Resistência ao aceturato de diminazeno tem sido observada e doses de 3,3 a 7mg/kg são recomendadas. Em ovinos infectados experimentalmente, doses de até 12mg/kg tem sido utilizadas (Gonzatti et al., 2014).

Fatores predisponentes relacionados ao novo ambiente, manejo nutricional e estresse de transporte podem ter contribuído para o estabelecimento de um surto no Tocantins (Linhares et al., 2006). Animais mantidos em boas condições nutricionais e sanitárias tem capacidade de superar e suprimir a infecção pelo parasito, no entanto, *T. vivax* não pode ser subestimado, pois em associação a outros agentes ou em condições precárias de nutrição e sanidade, podem causar consideráveis perdas econômicas (Paiva et al., 2000). No entanto, sob boas condições de nutrição e manejo, os bovinos são capazes de ter uma melhor resposta imunológica capaz de controlar e eliminar a infecção de *T. vivax* (Madruga, 2004).

Alguns estudos revelam interferência do tipo de exploração sobre a positividade de bovinos. No Norte do país, a soropositividade das vacas de corte foi menor (83%) quando comparado a bovinos leiteiros mestiços (96,7%) (Guedes Júnior et al., 2008). Isso também foi observado na microrregião de Uberaba-MG, onde 75% das propriedades exploravam a atividade leiteira, 10% a pecuária de corte e 15% eram propriedades mistas (Frange, 2013).

Portanto, o diagnóstico do *T. vivax* não é mais restrito a áreas alagadiças do Brasil da região Norte e do Pantanal e surtos de tripanossomose tem sido identificados em regiões imprevistas, como o sertão nordestino. As características do estado de portador amplia o potencial de difusão do parasito para áreas livres devido às recidivas sob condições de estresse. Além disso, o aumento da população de vetores mecânicos pode contribuir para a difusão do hematozoário, que causa significativo impacto na produtividade de ruminantes de produção (Madruga, 2009). Os episódios de tripanossomose verificados em várias regiões do território brasileiro são decorrentes da situação em que há introdução de animal portador com parasitemia, população de vetores mecânicos suficientes para efetuar a transmissão e animais susceptíveis à infecção do *T. vivax* (Desquesnes, 2004; Batista et al., 2009; Madruga, 2009). No entanto, a transmissão de *T. vivax* exclusivamente mecânica, permite que os vetores transmitam um pequeno número de parasitos, associado a um reduzido número de variantes antigênicas nesse tipo de transmissão, permitindo o controle natural da infecção (Jones e Dávila, 2001; Desquesnes, 2004). Porém, mais recentemente, além da introdução de animais nos rebanhos, surtos da doença tem sido associados ao compartilhamento de agulhas contaminadas, especialmente quando utilizadas para administração de ocitocina (Bastos et al., 2013; Barbosa et al., 2015).

Enfim, o protozoário está disseminado no país, podendo causar sérios problemas em rebanhos susceptíveis e maior atenção e controle são necessários com relação ao trânsito de animais de regiões onde o parasito está presente para regiões que permanecem livres (Cadioli et al., 2012; Pimentel et al., 2012) e vice-versa (Madruga, 2009), prevenindo novos surtos e perdas econômicas expressivas causadas pela doença (Cadioli et al., 2012).

CAPÍTULO 2

SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA A TRIPANOSSOMOSE BOVINA EM MINAS GERAIS

Resumo

A tripanossomose bovina é uma doença que possui ampla distribuição na África e na América Latina, sendo responsável por grandes perdas econômicas. Nas Américas, *Trypanosoma vivax* é o agente responsável pela doença em bovinos. No Brasil, na última década, surtos tem sido relatados em diversas regiões, inclusive em Minas Gerais. Diante disso, objetivou-se determinar a prevalência sorológica da tripanossomose bovina e avaliar os fatores de risco associados à doença no estado de Minas Gerais. Em 2011, realizou-se um estudo transversal no estado de Minas Gerais, o qual foi estratificado em sete regiões de acordo com as características agroprodutivas de cada uma delas: 1. Regiões Noroeste, Norte e Nordeste; 2. Região Leste; 3. Região Central; 4. Zona da Mata; 5. Regiões Sul e Sudoeste; 6. Alto Paranaíba; 7. Triângulo Mineiro. Ao todo, 2185 propriedades foram amostradas, das quais 2118 fizeram parte deste estudo. Destas, amostras de soro de um animal provenientes de cada rebanho foi submetida à imunofluorescência indireta (RIFI) para a detecção de anticorpos IgG anti-*T. vivax*. A soroprevalência das propriedades para tripanossomose bovina no estado de Minas Gerais foi 2,38% (95% IC: 1,68-3,08%). Entre os estratos a prevalência variou de 0,69% na região Leste (estrato 2) a 3,7% nas regiões Sul e Sudoeste (estrato 5), porém não houve diferença significativa. A análise de fator de risco indicou que rebanhos cujos seus proprietários relataram realizar o teste de brucelose, assim como a compra de animais de origem de comerciante de gado tiveram maior chance da ocorrência da doença, com *odds ratio* de 2,75 (95% IC: 1,37-5,51) e 3,36 (95% IC: 1,31-8,59), respectivamente. Não houve a presença de aglomerados entre as propriedades que apresentaram animais soro reagentes. O presente estudo é o primeiro a revelar a prevalência da tripanossomose bovina em todo o estado de Minas Gerais. Os resultados permitiram observar que no momento avaliado, a prevalência foi baixa, no entanto a doença se encontrou distribuída homogeneamente em todo o estado. Ademais, ações relacionadas à realização do teste de brucelose, como o compartilhamento de agulhas para a coleta de sangue, e a compra de animais de comerciantes de gado consistem em importantes fatores de risco para a ocorrência de tripanossomose bovina em Minas Gerais, demonstrando a necessidade da implementação de medidas de biossegurança e de educação sanitária nas propriedades.

Palavras-chave: *Trypanosoma vivax*, bovino, prevalência, imunofluorescência indireta, comércio de animais.

Introdução

A tripanossomose é causada por protozoários do gênero *Trypanosoma*, os quais afetam mamíferos domésticos, silvestres, selvagens e o homem, causando perdas econômicas significativas, especialmente em países da África Subsaariana (Dagnachew e Bezie, 2015) e da América Latina (Gonzatti et al., 2014). Cerca de três milhões de bovinos são mortos e aproximadamente 35 milhões de doses de medicamentos contra o parasito são administradas anualmente na África, com perdas econômicas anuais de até 4,5 bilhões de dólares (FAO, 2004; Schofield e Kabayo, 2008). Na Colômbia, a tripanossomose bovina foi considerada a terceira doença parasitária de maior importância (Wells, 1982). Na região do Pantanal do Brasil e das planícies baixas da Bolívia, o custo da doença foi estimado em 17% do valor total do animal (Seidl et al., 1999), podendo exceder \$160 milhões anuais (Dávila e Silva, 2000). Ademais, queda de 45% na taxa de prenhez e redução de 27% na produção de leite em Minas Gerais (Abrão et al., 2009) e de 25% em Goiás (Barbosa et al., 2015) foram observados durante surtos da doença.

Trypanosoma vivax, *T. congolense* e *T. brucei* são as espécies que acometem bovinos consideradas como as principais causadoras de doença nesses animais e de maior importância econômica (Magona et al., 2008). Na África, esses parasitos são transmitidos biologicamente por moscas tsé-tsé (*Glossina* spp.), mas *T. vivax* também pode ser transmitido mecanicamente por tabanídeos e *Stomoxys calcitrans*, permitindo a sua presença em áreas não infestadas por tsé-tsé no continente africano e em países da América Latina (Dávila e Silva, 2000; Jones e Dávila, 2001; Silva et al., 2002; Cherenet et al., 2006; Magona et al., 2008; Fikru et al., 2012), onde essas moscas não estão presentes. A transmissão transplacentária de *T. vivax* também tem sido relatada como uma forma importante para a epidemiologia da doença na América do Sul (Batista et al., 2012; Silva et al., 2013).

A introdução de *T. vivax* nas Américas ocorreu pela importação de bovinos do Oeste da África (Osório et al., 2008). No Brasil, *T. vivax* foi primeiramente relatado em bovinos (Bulhosa (1946), citado por Shaw e Lainson, 1972) e em búfalos (Shaw e Lainson, 1972) no estado do Pará. Em seguida, foi relatado nos estados do Amapá (Pereira e Abreu, 1978), Mato Grosso (Silva et al., 1996), Mato Grosso do Sul (Paiva et al., 1997), Tocantins (Linhares et al., 2006), Paraíba (Batista et al., 2007), Maranhão (Guerra et al., 2008), Minas Gerais (Carvalho et al., 2008), Rio Grande do Sul (Silva et al., 2009), Pernambuco (Pimentel et al., 2012) e São Paulo (Cadioli et al., 2012).

O parasito usualmente se encontra na corrente circulatória e causa quadros discretos a intensos da doença (Gonzatti et al., 2014). Porém pode ser encontrado em tecidos nervosos, no líquido e no humor aquoso, causando sinais neurológicos (Batista et al., 2007 e 2011; Galiza et al., 2011). Em regiões endêmicas como a Amazônia e o Pantanal brasileiro, as infecções são principalmente assintomáticas, com parasitemias baixas e doenças crônicas (Madruga et al., 2006). Nas regiões não endêmicas do Brasil, na presença do parasito e de vetores, surtos da doença são frequentes, caracterizando-se por infecções agudas, com elevada mortalidade (Cuglovici et al., 2010; Cadioli et al., 2012; Pimentel et al., 2012). Os estádios da tripanossomose bovina compreendem o período de incubação; o quadro agudo, caracterizado inicialmente por hipertermia e seguido de anemia moderada a intensa, lacrimejamento, edema subcutâneo, letargia, redução na produção de leite, perda de peso progressiva, aumento de volume de linfonodos, distúrbios reprodutivos (aborto, natimorto, anestro, danos testiculares e ovarianos) e alta mortalidade; e a fase crônica, na qual os animais que sobrevivem à fase aguda começam a se recuperar da anemia e se tornam assintomáticos, com a possibilidade de recidivas após qualquer tipo de estresse (Desquesnes, 2004; Osório et al., 2008; Gonzatti et al., 2014).

O diagnóstico de *T. vivax* pode ser realizado pelos sinais clínicos, métodos parasitológicos, sorológicos e/ou moleculares, com variações na sensibilidade e especificidade, relacionadas aos métodos e também variável de acordo com a fase da doença. O diagnóstico clínico é restrito à fase aguda da doença e possui vários outros diagnósticos diferenciais importantes, dentre eles anaplasmose, babesiose e verminose (Desquesnes, 2004; Osório et al., 2008; Gonzatti et al., 2014). O diagnóstico parasitológico pode ser utilizado para identificar o parasito a campo (Madruga, 2004) e apresenta sensibilidade dependente do estágio da doença, sendo de valor diagnóstico durante a ocorrência de surtos, porém possui sensibilidade reduzida em quadros crônicos (Desquesnes, 2004). Já os métodos sorológicos tem como principais técnicas a imunofluorescência indireta e o ELISA indireto (Silva et al., 2002), sendo de grande importância para estudos epidemiológicos. Os métodos moleculares permitem realizar diagnóstico espécie-específico de infecções ativas e subclínicas por *Trypanosoma* spp. (Desquesnes, 2004).

Para o controle efetivo da doença, além do tratamento de animais e a restrição do movimento de animais infectados, o monitoramento da distribuição e o estágio da doença, o controle de vetores e sanitário, além do treinamento de veterinários são fundamentais (Dávila e Silva, 2000; Dagnachew e Bezie, 2015). Dessa forma, o diagnóstico da situação epidemiológica é

fundamental para identificar a importância da doença dentro do contexto produtivo, a tomada de decisões para a prevenção e a eficiência de tais medidas no controle da tripanossomose bovina.

Desde o primeiro diagnóstico realizado em Minas Gerais (Carvalho et al., 2008), especialmente nos últimos três anos, uma equipe da EV-UFMG passou a diagnosticar rotineiramente quadros agudos da doença, com relatos de redução acentuada na produção de leite, ocorrência de abortos, animais com sinais nervosos, além de alta mortalidade em diversas regiões do estado. Diante disso, objetivou-se avaliar a soroprevalência da tripanossomose bovina e analisar fatores de risco associados à doença no estado de Minas Gerais.

Material e Métodos

Área e população do estudo

Um estudo transversal foi conduzido em rebanhos bovinos do estado de Minas Gerais. Foi realizada uma estratificação em sete circuitos produtores (estratos) de bovinos do estado (Figura 2), considerando-se características dos sistemas de produção, tipos de manejo, raças utilizadas, tamanho médio do rebanho, formas de comercialização do gado e práticas sanitárias aplicadas no rebanho (Alves, 2009; Gonçalves et al., 2009).

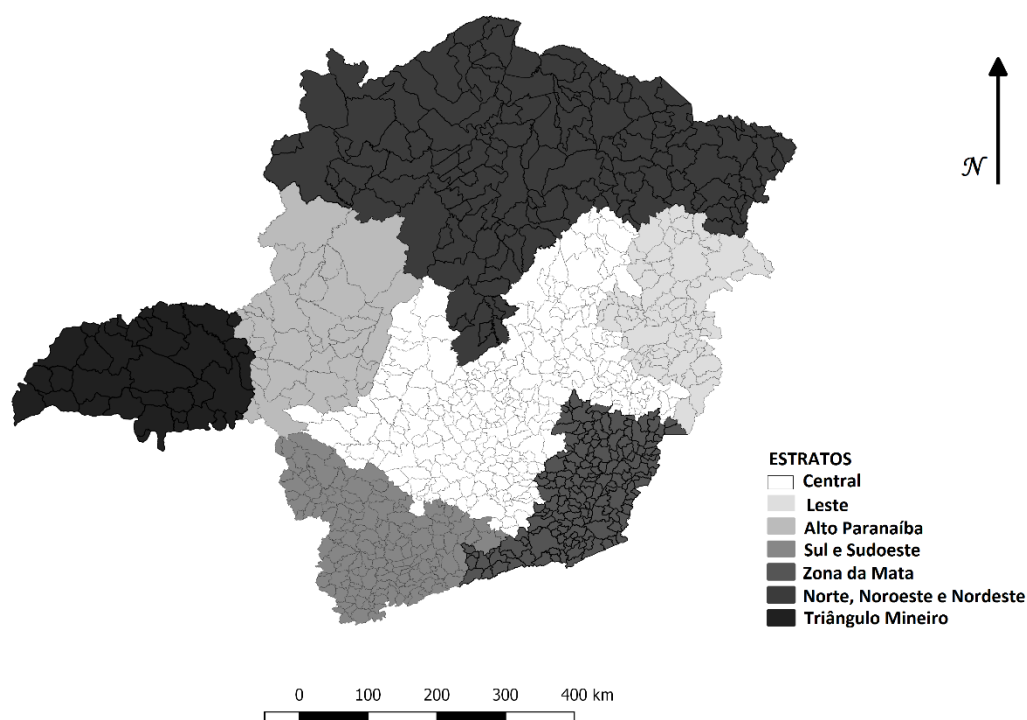


Figura 2. Estratificação do estado de Minas Gerais de acordo com as características agroprodutivas da bovinocultura segundo Alves (2009).

Seleção amostral

O cálculo amostral das propriedades foi realizado primariamente para um estudo da prevalência de brucelose bovina (Oliveira, 2016) no qual considerou-se grau de confiança de 0,95, prevalência esperada de brucelose bovina nos rebanhos de 7,1% (limite superior do intervalo de confiança determinado por Gonçalves et al. (2009) referente à prevalência estimada de rebanhos para brucelose bovina no ano de 2002 e erro absoluto de 0,03. A amostragem dos rebanhos foi

realizada de forma aleatória a partir de um número pré-estabelecido de propriedades tomando-se como base do cálculo os dados populacionais fornecidos pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) do ano de 2010. Quando houve a necessidade de substituição de alguma propriedade, escolheu-se a mais próxima e, preferencialmente, com características semelhantes. O total de propriedades amostradas em cada estrato foi estimado através da expressão utilizada para amostras simples ao acaso (Thursfield, 2005). Ao todo, 2185 propriedades no estado de Minas Gerais, pertencentes aos sete estratos, foram amostradas em sua maioria no ano de 2011 (2169 propriedades), com uma propriedade amostrada em 2010 e 15 delas em 2012. De cada rebanho foi coletada amostra de uma fêmea bovina acima de 24 meses de idade, excluindo-se aquelas que se encontravam no periparto (15 dias antes a 15 dias após o parto). Foram analisadas 2118 amostras das 2185 coletadas, uma vez que amostras de 67 propriedades foram perdidas, porém estas encontraram-se distribuídas de forma uniforme entre os estratos.

Método diagnóstico

Amostras de sangue foram coletadas da veia jugular dos bovinos utilizando-se material estéril descartável em tubos sem anticoagulante para obtenção do soro, o qual foi armazenado em microtubos de 1,5mL a -20°C.

O método utilizado foi a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), a qual foi realizada no Laboratório de Protozoologia Veterinária do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os antígenos foram produzidos a partir de sangue caprino infectado por *T. vivax* conforme descrito por Cuglovici et al. (2010). Inicialmente foi realizada uma triagem utilizando-se uma diluição de 1:40. As amostras fluorescentes foram retestadas na diluição de 1:80 e somente aquelas que floresceram utilizando-se esta diluição foram consideradas positivas (García et al., 2006).

Antígenos em suspensão em solução fixadora de acordo com o protocolo de Katende et al. (1987) foram mantidos refrigerados entre 4 e 10°C. Durante a confecção das lâminas, eles foram homogeneizados e um volume de 5µL foi colocado em cada poço das mesmas, as quais permaneceram a temperatura ambiente para a secagem durante cinco minutos. Neste ínterim, 2µL dos soros testes e de soro controle positivo foram diluídos a 78µL, durante a fase de triagem, ou a 158µL, durante a fase de reteste, de solução PBS 1X. Na sequência, 6µL dos soros diluídos foram colocados nos respectivos poços das lâminas, sobre os antígenos, reservando os dois primeiros poços de cada lâmina para os controles positivo e negativo (solução de PBS 1X), respectivamente, e os demais para os soros testes. Ato contínuo, as lâminas foram incubadas em câmara úmida a 37°C durante 30 minutos. Passado este período, as lâminas foram lavadas com PBS 1X e cobertas por tal solução, aguardando-se três minutos, que, encerrando este tempo, o procedimento foi repetido por mais duas vezes, porém, utilizando-se água destilada na última lavagem. Sucessivamente, as lâminas foram secas a temperatura ambiente e em cada poço foi adicionado o conjugado anti-IgG de bovino marcado com isotiocianato de fluoresceína (Serotec) diluído a 1:150 em solução de azul de Evans 1:50 em PBS 1X. Novamente, as lâminas foram incubadas em estufa úmida a 37°C durante 30 minutos e lavadas conforme descrito anteriormente. Posteriormente, as lâminas foram secas a temperatura ambiente e cobertas com glicerina tamponada e lamínulas. Na sequência, realizou-se a leitura das lâminas em microscópio de epifluorescência (Olympus BX51) em objetiva de 40X.

Cálculo da prevalência dos rebanhos

Cada amostra soro reagente representou a positividade da respectiva propriedade, sendo possível calcular a prevalência de focos para a tripanossomose bovina nos sete estratos e no estado de Minas Gerais. O cálculo da prevalência do rebanho foi realizado utilizando o programa STATA 12[®] (Statacorp, EUA), considerando-se o número de propriedades existentes em cada estrato no ano de 2013, de acordo com informações do IMA, além do número de propriedades amostradas e de propriedades positivas (Tabela 5). O intervalo de confiança (IC)

da prevalência de rebanhos foi obtido pela Distribuição Binomial Exata também por meio do programa STATA 12[®] (Statacorp, EUA). A prevalência de rebanho em cada estrato foi realizada adotando-se o peso de cada rebanho (P) no respectivo estrato e, conseqüentemente, no estado de acordo com Dohoo et al. (2003):

$$P = \frac{\text{número de propriedades no estrato}}{\text{número de propriedades amostradas no estrato}}$$

Tabela 5. Dados censitários de rebanhos bovinos com atividade produtiva do ano de 2013 de acordo com o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), número de rebanhos amostrados e o peso dos rebanhos amostrados em cada estrato.

Estrato	Regiões	Total de rebanhos com atividade produtiva	Rebanhos amostrados	Peso da propriedade dentro do estrato
1	Noroeste, Norte e Nordeste	78754	289	272,5051903
2	Leste	26275	290	90,60344828
3	Central	80555	352	228,2011331
4	Zona da Mata	44752	299	149,6722408
5	Sul e Sudoeste	61899	297	208,4141414
6	Alto Paranaíba	30147	296	102,1932203
7	Triângulo Mineiro	23789	295	80,64067797
Total	Minas Gerais	346171	2118	

Análise de fatores de risco

A análise de fatores de risco para a ocorrência de tripanossomose bovina foi realizada a partir de questionário aplicado a todos os rebanhos amostrados. As questões envolvidas foram elaboradas para a obtenção de um banco de dados primariamente associados à brucelose bovina, incluindo informações tais como tipo de exploração (corte, leite ou mista), tipo de criação (confinado, semi-confinado e extensivo), número e tipo de ordenha, produção de leite, utilização de inseminação artificial, raça predominante, número de animais nos rebanhos e nas respectivas categorias, presença de outras espécies domésticas e silvestres, ocorrência de aborto, realização do teste de brucelose e tuberculose, compra e venda de animais, vacinação para brucelose, local de abate dos animais, aluguel ou uso comum de pastos, presença de áreas alagadiças, disponibilidade de assistência veterinária, existência de área de pouso de boiada em trânsito. Juntamente a esses dados, os resultados referentes à RIFI foram armazenados na plataforma eletrônica Access[®] 1997 (Microsoft Corporation, EUA). Realizou-se organização em escala crescente de risco das categorias das variáveis de acordo com o comportamento das mesmas (Acha e Szyfres, 2001) assim como a recategorização das variáveis para adequar a disposição dos dados à realidade do estado. Isto ocorreu para o “número de fêmeas no rebanho”, de forma que a mediana foi 30 fêmeas acima de 24 meses e 95% correspondeu a 212 vacas.

Foi realizada, inicialmente, uma análise univariada pelo teste de χ^2 , no qual as variáveis com $P \leq 0,20$ (Zar, 2010) foram selecionadas e utilizadas no modelo de regressão logística multivariada (Tabela 6), seguindo o processo *forward* através da incorporação de variáveis para o teste e retirada daquelas não significativas ($P > 0,05$) para o modelo final – *design-based* (Hosmer Jr e Lemeshow, 1989), levando em consideração o valor dos pesos de cada propriedade dentro dos respectivos estratos. Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o programa STATA 12[®] (Statacorp, EUA).

Tabela 6. Variáveis com $P \leq 0,20$ na análise univariada (teste de χ^2) que foram submetidas à regressão logística multivariada.

Variáveis	Número de Propriedades Analisadas	Número de Propriedade Positivas	Número de Propriedades Negativas	P
Estrato	2118			
1 – Norte, Nordeste e Noroeste	289	4	285	0,162
2 – Leste	290	2	288	
3 – Central	352	10	342	
4 – Zona da Mata	299	5	294	
5 – Sul e Sudoeste	297	11	286	
6 – Alto Paranaíba	296	9	287	
7 – Triângulo Mineiro	295	9	286	
Raça dos bovinos				
1 – Zebu		9	307	0,126
2 – Europeu de Leite	2114	6	160	
3 – Europeu de Corte		0	1	
4 – Mestiço		26	1378	
5 – Outras raças		9	218	
Presença de aves				
0 – Não	2118	18	526	0,091
1 – Sim		32	1542	
Presença de cão				
0 – Não	2118	15	462	0,200
1 – Sim		35	1606	
Presença de gato				
0 – Não	2118	34	1034	0,012
1 – Sim		16	1034	
Realiza teste para brucelose				
0 – Não	2117	38	1799	0,023
1 – Sim		12	268	
Compra animais origem leilão				
0 – Não	2118	47	2011	0,167
1 – Sim		3	57	
Compra animais origem comerciantes				
0 – Não	2118	44	1962	0,032
1 – Sim		6	106	
Destino de venda de animais fazenda				
0 – Não	2118	46	1742	0,167
1 – Sim		4	326	

Análise espacial das propriedades para tripanossomose bovina

As propriedades amostradas foram inseridas em um mapa do estado de Minas Gerais por meio de suas coordenadas geográficas, com diferenciação entre as propriedades com caso positivo e aquelas cuja amostra foi negativa. A ocorrência de agrupamentos espaciais de propriedades positivas foi averiguada utilizando a função K de Ripley, testando-se a hipótese da identificação ao acaso ou não das propriedades positivas e negativas. Para a distância, o gráfico foi utilizado, averiguando-se o afastamento da pressuposição de identificação entre os limites superiores e inferiores da curva. Para a realização desses cálculos e os relacionados aos limites superior e inferior, utilizou-se o programa R (R Core Team, 2014) e os pacotes *rgeos*, *maptools*, *rgal* e *splanx* (Bivand e Rundel, 2014; Bivand e Lewin-Koh, 2015; Bivand et al., 2015; Rowlingson e Diggle, 2015). Simulações foram realizadas para a obtenção desses valores, totalizando 1.000, e comparou-se com a significância dos picos das funções (Druck, 2004).

Resultados

Entre os 2118 rebanhos avaliados, 50 deles apresentaram amostra de soro positiva através da RIFI para *Trypanosoma vivax*. A prevalência de tripanossomose bovina nos rebanhos amostrados no ano de 2011 no estado de Minas Gerais foi baixa (2,38%) e variou de 0,69% no

estrato 2 (região Leste) a 3,7% no estrato 5 (regiões Sul e Sudoeste), conforme apresentado na Tabela 7. Apesar da variação, as prevalências entre os estratos não diferiram ($P > 0,05$). A Figura 3 apresenta a distribuição espacial dos rebanhos soropositivos e soronegativos no estado de Minas Gerais e nos respectivos estratos.

Tabela 7. Prevalência de rebanhos bovinos soro reagentes para *Trypanossoma vivax* nos sete estratos e no estado de Minas Gerais, 2011.

Estrato	Regiões	Rebanhos		Prevalência (%)	IC (95%)*
		Amostrados	Positivos		
1	Noroeste, Norte e Nordeste	289	4	1,38	0,036 – 2,73
2	Leste	290	2	0,69	0,00 – 1,64
3	Central	352	10	2,84	1,10 – 4,57
4	Zona da Mata	299	5	1,67	0,21 – 3,12
5	Sul e Sudoeste	297	11	3,70	1,55 – 5,85
6	Alto Paranaíba	296	9	3,03	1,07 – 4,98
7	Triângulo Mineiro	295	9	3,05	1,08 – 5,01
Total	Minas Gerais	2118	50	2,38	1,68 – 3,08

*Intervalo de confiança a 95%.

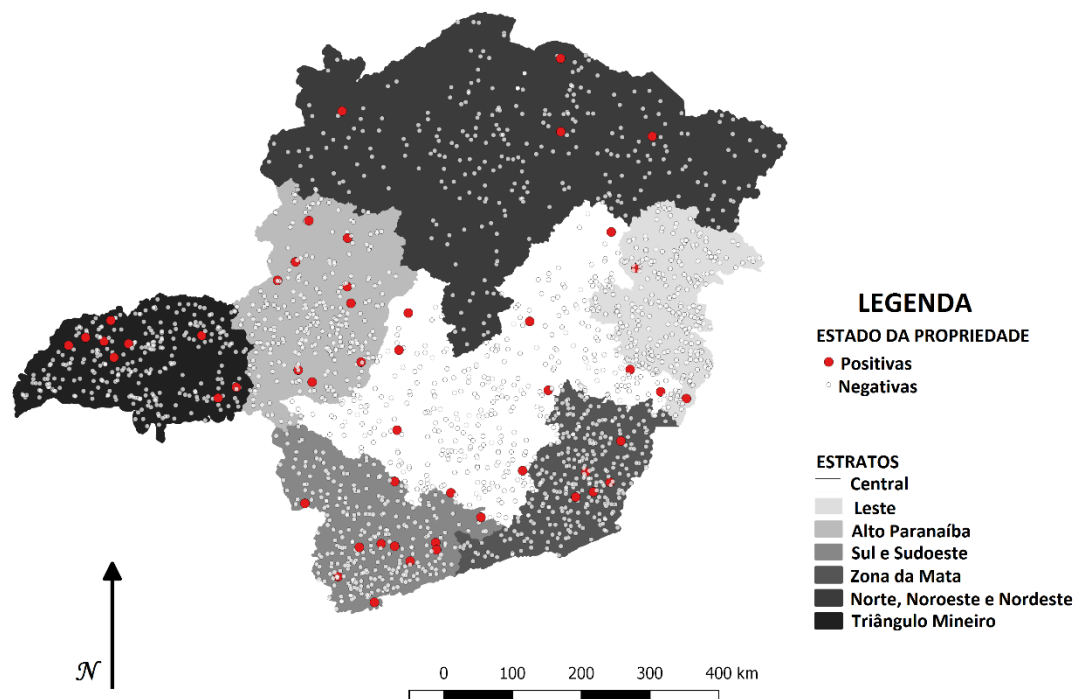


Figura 3. Distribuição espacial dos rebanhos soronegativos e soropositivos para anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* pela RIFI, no estado de Minas Gerais e nos respectivos estratos, 2011.

Na análise de fatores de risco para tripanossomose em bovinos, utilizando-se os dados de um questionário feito primariamente para um estudo de brucelose bovina, apenas duas variáveis

apresentaram concomitantemente teste χ^2 com $P \leq 0,20$ e foram significativas ($P \leq 0,05$) à regressão logística multivariada: 1- Realiza teste de brucelose; e 2- Compra animais de origem de comerciantes de gado (Tabela 8). Os rebanhos nos quais os proprietários alegaram realizar o teste de brucelose tiveram em torno de três vezes mais chance de apresentar amostra soropositiva comparados àqueles cujos donos afirmaram não ter a prática de realização do teste. No entanto, os rebanhos positivos para brucelose (Oliveira, 2016) foram testados e não foram significativos para a ocorrência de tripanossomose bovina. Já os rebanhos que continham animais comprados a partir de comerciantes de gado tiveram mais de três vezes a chance de apresentar amostra soro reagente.

Tabela 8. Resultado da análise de regressão logística multivariada para associação aos fatores de risco para tripanossomose bovina nos rebanhos do estado de Minas Gerais, 2011.

Variável	Odds Ratio	IC (95%)*	P
Realiza teste de brucelose	2,75	1,37 – 5,51	0,004
Compra animais de origem de comerciantes de gado	3,36	1,31 – 8,59	0,011

*Intervalo de confiança a 95%.

A análise para a identificação da presença de aglomerados entre os rebanhos positivos para *T. vivax* em Minas Gerais não evidenciou a sua existência. Isto foi confirmado pela ausência de transposição da curva nos limites inferior e superior nas 1.000 simulações realizadas (Figura 4).

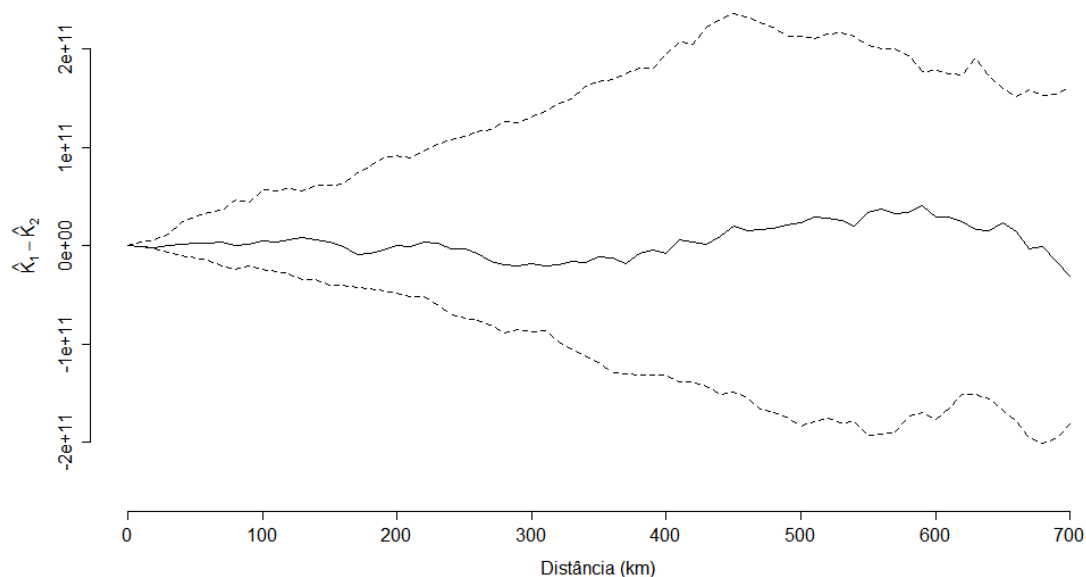


Figura 4. Diferenças entre funções k para rebanhos soropositivos e soronegativos para *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais, 2011 (linhas pontilhadas representando os limites inferior e superior do envelope; linha contínua representando o padrão espacial observado).

Discussão

A presença de anticorpos anti-*Trypanosoma vivax* em 50 rebanhos bovinos de Minas Gerais no ano de 2011 evidencia a existência do protozoário no estado, porém com uma prevalência baixa (2,38%). Apesar de uma variação de aproximadamente seis vezes entre os estratos com menor prevalência (0,69%; estrato 2 – região Leste) e com maior (3,7%; estrato 5 – regiões Sul e

Sudoeste), eles não diferiram, o que provavelmente está relacionado à baixa soroprevalência em todos os estratos e ao erro absoluto adotado de 0,03. Esta situação epidemiológica torna a maioria dos rebanhos mineiros susceptíveis ao parasito, especialmente à ocorrência de surtos (Cherenet et al., 2006). Além disso, a distribuição das propriedades positivas para tripanossomose bovina foi homogênea nos sete estratos do estado de Minas Gerais, não sendo identificada a presença de aglomerados através da análise espacial.

Após o primeiro relato da doença em uma vaca realizado por Carvalho et al. (2008) em Minas Gerais, surtos de tripanossomose bovina foram relatados nesse estado (Cuglovici et al., 2010; Frange, 2013). No início de um deles, Cuglovici et al. (2010) observaram apenas 7,4% de animais soropositivos, chegando a 47% um ano e meio depois devido à persistência dos anticorpos por quatro a 12 meses após a infecção (Van den Bossche et al., 2000; Desquesnes, 2004). No entanto, Frange (2013), ao avaliar 16 amostras de animais com sinais clínicos da doença durante um surto por meio de RIFI, verificaram que todos eles foram soro reagentes. Além disso, em São Paulo, Cadioli et al. (2012), ao realizar ELISA, identificou 98,36% dos animais de uma propriedade onde ocorrera um surto com a presença de anticorpos contra *T. vivax* cinco meses após o seu início.

Em um estudo sorológico realizado na microrregião de Uberaba, verificou-se que 55,6% dos 36 rebanhos amostrados apresentaram pelo menos um animal soro reagente pela RIFI (Frange, 2013), valor bem acima do observado neste estudo. Essa diferença provavelmente está associada basicamente a três fatores: 1) ao número de amostras coletadas por rebanho, que neste estudo foi de apenas uma, enquanto Frange (2013) coletou entre quatro e 164 amostras de cada rebanho avaliado; 2) ao número de propriedades amostradas, sendo 36 rebanhos amostrados por Frange (2003), enquanto neste estudo avaliou-se 2118 propriedades; e 3) à área geográfica de abrangência dos estudos, a microrregião de Uberaba vs. o estado de Minas Gerais. Um fator adicional pode estar presente uma vez que no estudo de Frange (2013) relatou-se que o IMA foi o responsável pela seleção e coleta das amostras, porém não há clareza quanto aos critérios de seleção, podendo a amostragem ter sido viciada, caso o critério de seleção utilizado tenha sido a suspeita da presença da doença no rebanho.

Em estudos realizados no Pará, soroprevalências de 18,9% (Madruga et al., 2006) a 93,1% (Guedes Júnior et al., 2008) foram encontradas em animais amostrados no estado. Tal situação epidemiológica também é observada no Pantanal Mato-Grossense, onde 56% dos animais, em média, apresentaram sorologia positiva (Madruga et al., 2006). Isso é esperado em regiões tidas como endêmicas, tais como o Norte do país e o Pantanal, diferentemente do observado no estado de Minas Gerais. No entanto, em Pernambuco, onde um surto foi relatado na região costeira do estado (Pimentel et al., 2012), verificou-se frequência de 13,93% de animais soro reagentes (Guerra et al., 2013). Já na Paraíba, surtos foram relatados em bovinos (Batista et al., 2007; Batista et al., 2008; Batista et al., 2012) e em pequenos ruminantes (Batista et al., 2009). Além disso, Costa et al. (2013) não observaram evidência sorológica em bovinos oriundos de 37 fazendas do semiárido, concluindo-se que o parasito não se encontra disseminado no estado. No presente estudo, não se estimou a prevalência de animais soro reagentes em Minas Gerais devido à amostragem de um animal por rebanho, uma vez que o principal objetivo foi averiguar a situação epidemiológica da tripanossomose no estado, tomando-se como preferência a amostragem do maior número de propriedades.

A análise de regressão logística multivariada, realizada para a identificação dos fatores de risco, indicou que a declaração do proprietário de que realiza o teste para brucelose, assim como aqueles que alegaram comprar animais de comerciantes de gado apresentaram maior chance de ocorrência da doença. Apesar de diversas perguntas do questionário serem pertinentes para a análise de fatores de risco para a tripanossomose, é imperativo frisar que o questionário realizado durante a amostragem foi feito tomando-se referências de fatores de risco para brucelose. Isto significa que outros fatores poderiam ser identificados caso o questionário fosse

montado considerando-se a tripanossomose bovina, tais como a existência de problemas com vetores e a forma de utilização de agulhas durante a administração de vacinas e medicamentos.

Realizar o teste para brucelose, sem dúvida, não influencia diretamente na ocorrência de tripanossomose, especialmente pelo fato de que os resultados de propriedades positivas para brucelose foram analisados e não apresentaram significância. Provavelmente isto está associado a práticas sanitárias adotadas pelos produtores. Práticas sanitárias deficientes, como o uso de mesma agulha para vários animais durante a administração de medicamentos e vacinas, pode auxiliar na disseminação de *T. vivax* (Dávila e Silva, 2000; Jones e Dávila, 2001; Quispe et al., 2003; Agudo et al., 2009). Na microrregião de Uberaba, em propriedades que continham animais soropositivos não havia a troca de agulha entre animais durante procedimentos de aplicação de medicamentos e/ou vacinas. Apenas 5% realizavam algum tipo de desinfecção, 15% trocavam a cada 10 bovinos e 80% utilizam a mesma agulha para os animais (Frange, 2013). Além disso, surtos relatados em bovinos leiteiros do estado de Mato Grosso (Bastos et al., 2013) e de Goiás (Barbosa et al., 2015) foram relacionados à utilização de mesma agulha e seringa na administração de ocitocina, via intravenosa, previamente à ordenha, para auxiliar na ejeção do leite. No Brasil, essa prática se torna cada vez mais presente, uma vez que o rebanho leiteiro nacional se caracteriza, em sua maioria, por animais mestiços (Guimarães et al., 2002), que requerem a presença do bezerro no momento da ordenha para a estimular a ejeção do leite. No entanto, com a adoção da ordenha mecânica, a presença do bezerro na sala de ordenha dificulta a operação e a administração de ocitocina exógena tem sido amplamente utilizada, gerando riscos de transmissão de patógenos veiculados por meio de agulhas contaminadas (Oliveira, 2010).

Em contrapartida, a compra de animais de comerciantes de gado gera influência direta sobre a ocorrência da tripanossomose bovina. Tais comerciantes de bovinos têm como característica comprar e vender frequentemente um grande número de animais, de diferentes origens, e não é comum que esses negociantes tenham preocupação com o perfil sanitário dos animais que comercializam. De acordo com Simoes et al. (2009), a movimentação e a comercialização de animais na América do Sul, na ausência de controle sanitário adequado, consistem em fatores de risco para o surgimento de surtos da doença, assim como para a sua disseminação. No Peru, em uma das zonas de maior comércio de gado vivo, 97% dos animais de um distrito apresentavam infecções ativas de *T. vivax* (Quispe et al., 2003). No Brasil, o comércio de animais após a abertura de rodovias nos anos 90, ligando as regiões Norte e Centro-Oeste do Brasil, foi acreditado ser o responsável pela disseminação do parasito no Pantanal (Dávila e Silva, 2000; Jones e Dávila, 2001; Madruga, 2009). Além disso, a importação de aproximadamente 180.000 bovinos oriundos do Pantanal brasileiro levou ao surgimento dos primeiros casos da doença na Bolívia (Silva et al., 1996) e após uma visita da FAO em 1998 no Brasil, Bolívia e Paraguai houve um consenso de que o movimento de animais consistia no principal fator de risco para a disseminação da tripanossomose (Dávila e Silva, 2000).

No Tocantins, um surto foi relacionado à introdução de animais oriundos de São Paulo (área considerada livre) e evidenciou o risco da introdução de animais susceptíveis para áreas potencialmente enzoóticas (Linhares et al., 2006). Já na Paraíba, surtos coincidiram com o contato de animais em área previamente diagnosticada (Batista et al., 2008; Batista et al., 2012) e em Pernambuco, o surto provavelmente foi influenciado pelo trânsito de animais cronicamente infectados em regiões livres (Pimentel et al., 2012). Ainda, em São Paulo, o primeiro relato da doença foi associado à introdução de animais criados no Mato Grosso do Sul um mês antes ao início dos sinais clínicos (Cadioli et al., 2012). No estado do Mato Grosso, um surto em uma propriedade leiteira ocorreu após a aquisição de 200 fêmeas bovinas provenientes do próprio estado, de Goiás e de Minas Gerais, desencadeando a morte de 19 animais em menos de 30 dias (Bastos et al., 2013) e de forma semelhante, em Goiás, a compra de animais de origem desconhecida, acarretou em um surto 16 dias depois (Barbosa et al., 2015).

Apesar de não ter sido identificado como um fator de risco neste estudo, uma vez que no questionário realizado para brucelose bovina não havia essa informação, vetores consistem em um fator de risco importante e não devem ser negligenciados. Isto é comprovado no relato de diversos surtos da doença no país, inclusive em Minas Gerais. Nas regiões Norte e do Pantanal do Brasil há condições de temperatura e umidade propícias para o desenvolvimento e manutenção de insetos hematófagos, dos quais os tabanídeos assumem grande importância epidemiológica na transmissão de *T. vivax* (Silva et al., 1996; Dávila e Silva, 2000; Paiva et al., 2000; Dávila et al., 2003; Linhares et al., 2006; Guedes Júnior et al., 2008). No semiárido nordestino surtos da doença em bovinos (Batista et al., 2007; Batista et al., 2008, Batista et al., 2012) e em pequenos ruminantes (Batista et al., 2009) coincidiram com o aumento no número de vetores. Em Pernambuco, a alta densidade de moscas hematófagas na região costeira do estado pode ter facilitado a disseminação do parasito durante o surto ocorrido nessa região (Pimentel et al., 2012). Isto também foi observado durante um surto da doença em Minas Gerais, o qual foi associado ao aumento na população de *Stomoxys calcitrans* após um período chuvoso (Cuglovici et al., 2010), e em São Paulo, que apesar da baixa pluviosidade havia *Haematobia irritans* e *S. calcitrans* em grande quantidade, possivelmente devido ao uso de resíduos de usinas de açúcar e álcool nos canaviais ao redor da propriedade (Cadioli et al., 2012). Similarmente, um dos fatores que permitiram a ocorrência de um surto ao redor de Uberaba-MG foi o aumento de moscas em função do uso de subprodutos de usina na região (Frange, 2013).

Vale a pena destacar que o estado de Minas Gerais, a partir dos dados encontrados no presente trabalho, encontra-se numa situação de risco para a tripanossomose, pois apresenta o agente distribuído uniformemente entre as regiões, porém a grande maioria das propriedades é soronegativa, ou seja, há um grande número de animais susceptíveis no estado. Adicionalmente, existem práticas adotadas nas propriedades que aumentam intensamente o risco de infecção como a falta de controle na comercialização e de adoção de medidas de biossegurança básicas. Tais práticas são comumente observadas nos rebanhos de gado mestiço que tem apresentado surtos da doença em Minas Gerais e que foram acompanhados pela equipe da Escola de Veterinária – UFMG. A introdução recente de animais nas propriedades oriundos de comerciantes de gado e o compartilhamento diário de agulhas para o uso de ocitocina durante as ordenhas consistem uma realidade nesses rebanhos. Esses riscos são agravados pela falta de uma legislação própria para essa enfermidade pelos órgãos de vigilância sanitária e de saúde animal, cuja doença é de notificação obrigatória apenas em casos transmitidos por tsé-tsé (MAPA, 2013), e pela ausência de medicamentos eficientes específicos registrados para uso no Brasil. Portanto, torna-se evidente que práticas sanitárias deficientes e a compra de animais por meio de mercadores de gado consistem em risco para a ocorrência da tripanossomose bovina. Isto evoca a necessidade da realização de educação sanitária para os proprietários, demonstrando que o uso de uma só agulha durante procedimentos de coleta de sangue, administração de medicamentos, ou mesmo vacinações consiste não só no risco para a tripanossomose, como também diversas outras doenças. Adicionalmente, é irrefutável que, para a aquisição de animais, testes diagnósticos sejam realizados, minimizando os riscos da introdução do agente no rebanho.

Conclusões

Este é o primeiro estudo de prevalência da tripanossomose bovina que abrange todo o estado de Minas Gerais. Os resultados do presente estudo permitiram observar que, apesar de baixa prevalência, a tripanossomose bovina já estava distribuída homoganeamente em todas as regiões do estado no ano de 2011, com a existência de grande número de rebanhos soronegativos, ou seja, susceptíveis à enfermidade. A baixa adoção de medidas de biossegurança nas propriedades rurais no estado, principalmente com relação à aplicação de medicamentos e à aquisição de animais com situação sanitária desconhecida, podem colaborar como fatores de disseminação do parasito.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) pela realização da coleta das amostras nas propriedades e a aplicação dos questionários e ao LBA/EV/UFMG, EpiPlan/UnB e LEB/FMVZ/USP, pelo delineamento amostral. Adicionalmente à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE/EV/UFMG) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ABRÃO, D.C.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J. et al. Impacto econômico causado por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no estado de Minas Gerais. *Cien. Anim. Bras.*, 2009. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7882/5716>>. Acessado em: 19 set 2014.
- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y los animales*. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001. P. 28-56. (Publicação científica, 580).
- ADAM, Y.; MARCOTTY, T.; CECCHI, G. et al. Bovine trypanosomosis in the Upper West Region of Ghana: entomological, parasitological and serological cross-sectional surveys. *Res. Vet. Sci.*, v. 92, p. 462-468, 2012.
- ADAMS, E.R.; HAMILTON, P.B.; MALETE, I.I. et al. The identification, diversity and prevalence of trypanosomes in field caught tsetse in Tanzania using ITS-1 primers and fluorescent fragment length barcoding. *Infect. Genet. Evol.*, v. 8, p. 439-444, 2008.
- AGUDO, L.; TAMASAUKAS, R.; SILVA, A. et al. Tipo bovino trypanotolerante y trypanosusceptible doble propósito en la región de los Llanos Centrales de Venezuela. I: Identificación y caracterización fenotípica. *REDVET. Rev. Electrón. Vet.*, v. 10, p. 1-23, 2009.
- ALINGU, R.A.; MUHANGUZI, D.; MACLEOD, E. et al. Bovine trypanosome species prevalence and farmers' trypanosomiasis control methods in South-western Uganda. *J. S. Afr. Assoc.*, v. 85, v. 1-5, 2014.
- ALONSO, M.; CAMUS, E.; RODRIGUEZ DIEGO, J. et al. Situation actuelle des hémoparasitoses bovines em Martinique (Antilles françaises). *Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, v. 45, p. 9-14, 1992.
- ALVES, C.M. *Caracterização do perfil agroprodutivo da pecuária bovina do estado de Minas Gerais, 2002*. 2009. 152p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.
- ANDERSON, N.E.; MUBANGA, J.; FEVRE, E.M. et al. Characterisation of the wildlife reservoir community for human and animal trypanosomiasis in the Luangwa Valley, Zambia. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, v. 5, n. 6, e1211, 2011.
- ANGWECH, H.; NYEKO, J.H.P.; OPIYO, E.A. et al. Heterogeneity in the prevalence and intensity of bovine trypanosomiasis in the districts of Amuru and Nwoya, Northern Uganda. *Vet. Res.*, v. 11, p. 1-8, 2015.
- ARAY, C.; UZCANGA, G.; SOTO, H. et al. Ensayo inmunoenzimático para el diagnóstico de la tripanosomiasis bovina causada por *Trypanosoma* sp. Seroprevalencia em el municipio Monagas del estado Guárico-Venezuela. *Rev. Científica, FCV-Luz*, v. 8, Suppl. 1, p. 114-116, 1998.
- ASSOKU, R.K.; GARDINER, P.R. Detection of antibodies to platelets and erythrocytes during infection with haemorrhage-causing *Trypanosoma vivax* in Ayrshire cattle. *Vet. Parasitol.*, v. 31, p. 199-216, 1989.
- AUTHIÉ, E.; BRINGAUD, F.; BAKALARA, N. et al. Trypanosomes humaines et animaux: maladie du sommeil et Nagana. *Ann. Inst. Pasteur*, v. 10, p. 27-50, 1999.

BARBOSA, J.C.; BASTOS, T.S.A.; RODRIGUES, R.A. et al. Primeiro surto de tripanossomose bovina detectado no estado de Goiás, Brasil. *Ars Veterinaria*, v. 31, n. 2, p. 100, 2015.

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

BATISTA, J.S.; BEZERRA, F.S.B.; LIRA, R.A. et al. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 28, p. 63-69, 2008.

BATISTA, J.S.; OLIVEIRA, A.F.; RODRIGUES, C.M. et al., Infection by *Trypanosoma vivax* in goats and sheep in the Brazilian semiarid region: from acute disease outbreak to chronic cryptic infection. *Vet. Parasitol.*, v. 165, p. 131-135, 2009.

BATISTA, J.S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M.M. et al. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Vet. Parasitol.*, v. 143, p. 174-181, 2007.

BATISTA, J.S.; RODRIGUES, C.M.; GARCIA, H.A. et al. Association of *Trypanosoma vivax* in extracellular sites with central nervous system lesion and changes in cerebrospinal fluid in experimentally infected goats. *Vet. Res.*, v. 42, n. 63-69, 2011.

BATISTA, J.S.; RODRIGUES, C.M.; OLINDA, R.G. et al. Highly debilitating natural *Trypanosoma vivax* infectious in Brazilian calves: epidemiology, pathology, and probable transplacental transmission. *Parasitol. Res.*, v. 110, p. 73-80, 2012.

BENGALY, Z.; SIDIBE, I.; GANABA, R. et al. Comparative pathogenicity of three genetically distinct types of *Trypanosoma congolense* in cattle: clinical observations and haematological changes. *Vet. Parasitol.*, v. 108, p. 1-19, 2002.

BETHENCOURT, A.M.; GARCÍA, H.A.; PÉREZ, A.M. et al. Prevalencia de *Trypanosoma* spp. mediante ELISA e imunofluorescência indirecta en tres rebaños de búfalos de agua del estado Cojedes, Venezuela. *Rev. Fac. Cs. Vets.*, v. 54, p. 89-99, 2013.

BIRYOMUMAISHO, S.; RWAKISHAYA, E.K.; MELVILLE, A.E. et al. Livestock trypanosomosis in Uganda: parasite heterogeneity and anaemia status of naturally infected cattle, goats and pigs. *Parasitol.Res.*, v. 112, p. 1443-1450, 2013.

BIVAND, R.; KEITT, T.; ROWLINGSON, B. (2015). *Rgdal: Bindings for the Geospatial Data Abstraction Library*. R package version 0.9-2. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=rgdal>>. Acessado em: 01 abr. 2016.

BIVAND, R.; LEWIN-KOH, N. (2015). *Maptools: Tools for Reading and Handling Spatial Objects*. R package version 0.8-36. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=maptools>>. Acessado em: 01 abr. 2016.

BIVAND, R.; RUNDEL, C. (2014). *Rgeos: Interface to Geometry Engine – Open Source (GEOS)*. R package version 0.3-8. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=rgeos>>. Acessado em 01 abr. 2016.

CADIOLI, F.; DE BARNABÉ, P.A.; MACHADO, R. et al. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 21, p. 118-124, 2012.

- CAROUGEAU, M. Tripanosomose bovine à la Martinique. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 22, p. 246-247, 1929.
- CARVALHO, A.U.; ABRÃO, D.C.; FACURY FILHO, E.J. et al. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 60, p. 769-771, 2008.
- CHERENET, T.; SANI, R.A.; SPEYBROECK, N. et al. A comparative longitudinal study of bovine trypanosomosis in tsetse-free and tsetse-infested zones of the Amhara region, northwest Ethiopia. *Vet. Parasitol.*, v. 140, p. 251-258, 2006.
- CLARKSON, M.J.; McCABE, W.; COLINA, H.S. Bovine trypanosomiasis in Venezuela. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 65, p. 257-258, 1971.
- CORTEZ, A.P.; RODRIGUES, A.C.; GARCIA, H.A. et al. Cathepsin L-like genes of *Trypanosoma vivax* from Africa and South America – characterization, relationships and diagnostic implications. *Mol. Cell. Probes*, v. 23, p. 44-51, 2009.
- COSTA, V.M.M.; RIBEIRO, M.F.B.; DUARTE, A.L.L. et al. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 22, p. 207-213, 2013.
- CUGLOVICI, D.A.; BARTHOLOMEU, D.C.; REIS-CUNHA, J.L. et al. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 169, p. 320-326, 2010.
- DAGNACHEW, S.; BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. *African J. Basic Applied Sci.*, v. 7, n. 1, p. 41-64, 2015.
- DÁVILA, A.M.R.; HERRERA, H.M.; SCHLENBINGER, T. et al. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomiasis in the Pantanal, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 117, p. 1-13, 2003.
- DÁVILA, A.M.R.; SILVA, R.A.M.S. Animal trypanosomiasis in South America. Current status, partnership, and information technology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 916, p. 199-212, 2000.
- DAYO, G.K.; BENGALY, Z.; MESSAD, S. et al. Prevalence and incidence of bovine trypanosomosis in an agro-pastoral area of southwestern Burkina Faso. *Res. Vet. Sci.*, v. 88, p. 470-477, 2010.
- DELAFOSSÉ, A.; THÉBAUD, E.; DESQUESNES, M. et al. Epidemiology of *Trypanosoma vivax* infection in cattle in tse-tse free area of Lake Chad. *Prev. Vet. Med.*, v. 74, p. 108-119, 2006.
- DESQUESNES, M.; DÁVILA, A.M.R. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. *Vet. Parasitol.*, v. 109, p. 213-231, 2002.
- DESQUESNES, M.; DIA, M.L. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by African tabanid *Atylotus fuscipes*. *Vet. Parasitol.*, v. 119, p. 9-19, 2004.
- DESQUESNES, M. Evaluation of simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosoma vivax* infection in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen-enzyme-linked immune sorbent assay. *Acta Trop.*, v.65, p.139-148, 1997.
- DESQUESNES, M.; GARDINER, P.R. Épidémiologie de la trypanosomose bovine (*Trypanosoma vivax*) en Guyane Française. *Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, v. 46, p. 463-470, 1993.

- DESQUESNES, M. International and regional standardization of immunoenzyme tests: methods, concerns and limitations. *Rev. Sci. Tech.*, v. 16, p. 809-823, 1997.
- DESQUESNES, M. *Livestock trypanosomes and their vectors in Latin America*. OIE – World Organization for Animal Health. Paris. 2004.
- DESQUESNES, M.; TRESSE, L. Evaluation de la sensibilité du test de WOO pour la détection de *Trypanosoma vivax*. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, v. 49, p. 315-321, 1996.
- DIRIE, M.F.; OTTE, M.J.; THATTHI, R. et al. Comparative studies of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* isolates from Colombia. *Parasitol.*, v. 106, p. 21-29, 1993.
- DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. *Veterinary epidemiology research*. Charlottetow, Canada: Atlantica Veterinary College, 2003. 706p.
- DRUCK, S.; CARVALHO, M.S.; CÂMARA, G. et al. (Eds). *Análise espacial de dados geográficos*. Brasília, EMBRAPA, 2004.
- ENWEZOR, F.N.C.; SAMDI, S.M.; IJABOR, O. et al. The prevalence of bovine trypanosomes in parts of Benue state, north-central Nigeria. *J. Vector Borne Dis.*, v. 49, p. 188-190, 2012.
- ESPINOZA, E.; GONZÁLEZ, N.; ASO, P. et al. Incidencia serologica de *Trypanosoma vivax* en bezerros a pastoreo en sabanas del estado Guarivo. *Vet. Trop.*, v. 24, p. 5-15, 1999.
- FAO. Corporate Document Repository. A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African animal trypanosomosis. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2006.
- FAO. The state of food and agricultura 2003-2004. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2004.
- FABRE, H.; BERNARD, M. Sur un nouveau de trypanosomiasis bovine observe à la Guadeloupe. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 19, p. 435-437, 1926.
- FERENC, S.A.; STOPINSK, V.; COURTENEY, C.H. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosome vivax* and its use in a seroepidemiological survey in the eastern Caribbean basin. *Int. J. Parasitol.*, v. 20, p. 51-56, 1990.
- FIKRU, R.; GODDEERIS, B.M.; DELESPAUX, V. et al. Widespread occurrence of *Trypanosoma vivax* in bovines of tsetse- as well as non-tsetse-infested regions of Ethiopia: a reason for concern? *Vet. Parasitol.*, v. 190, p. 355-361, 2012.
- FORD, L.B. Civil conflict and sleeping sickness in Africa in general and Uganda particular. *Confl. Health*, v. 1, p. 1-10, 2007.
- FRANGE, R.C.C. *Tripanossomíase em vacas na microrregião de Uberaba – MG: estudo soroepidemiológico e relato de surto*. 2013. Dissertação (Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos) – Universidade de Uberaba, Uberaba – MG.
- GALIZA, G.J.; GARCIA, H.A.; ASSIS, A.C. et al. High mortality and lesions of the central nervous system in Trypanosomosis by *Trypanosoma vivax* in Brazilian hair sheep. *Vet. Parasitol.*, v. 182, p. 359-363, 2011.
- GARCÍA, H.A.; GARCÍA, M.E.; ZERPA, H.A. et al. Detección parasitológica y molecular de infecciones naturales por *Trypanosoma evansi* y *Trypanosoma vivax* em búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) y chigüires (*Hydrochoerus hydrochaeris*) em los estados Apure, Cojedes y Guárico, Venezuela. *Rev. Fac. Cs. Vets.*, v. 44, p. 131-144, 2003.

- GARCÍA, H.A.; RODRIGUES, A.C.; RODRIGUES, C.M.F. et al. 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*, v. 7, p. 1-13, 2014.
- GARCÍA, H.; GARCÍA, M.E.; PÉREZ, G. et al. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v. 100, p. 297-305, 2006.
- GARCÍA, O.; VIZCAÍNO, O.; TENORIO, P. Estudio seroepidemiológico de la tripanosomiasis bovina en el departamento de Córdoba-Colombia. *Rev. ICA*, v. 27, p. 77-83, 1992.
- GARDINER, P.R. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. *Adv. Parasitol.*, v. 28, p. 229-317, 1989.
- GONÇALVES, V.S.P.; DELPHINO, R.A.; DIAS, R.A. et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no estado de Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 61, Supl. 1, p. 35-45, 2009.
- GONZALES, J.L.; CHACON, E.; MIRANDA, M. et al. Bovine trypanosomosis in the Bolivian Pantanal. *Vet. Parasitol.*, v. 146, p. 9-16, 2007.
- GONZÁLEZ, J.R.; MELÉNDEZ, R.D. Seroprevalencia de la tripanosomosis y anaplasmosis bovina en el municipio Juan José Mora del estado Carabobo, Venezuela, mediante la técnica de ELISA. *Rev. Científica, FCV-Luz*, v. 17, p. 449-455, 2007.
- GONZATTI, M.I.; GONZÁLEZ-BARADAT, B.; ASO, P.M. et al. *Trypanosoma (Duttonella) vivax* and Trypanosomosis in Latina America: Secadera/Huequera/Cacho Hueco. In: MAGEZ, S.; RADWANSKA, M. Trypanosomes and Trypanosomiasis. Springer-Verlag Wien, London, 2014.
- GUEDES JÚNIOR, D.S.; ARAÚJO, F.R.; SILVA, F.J.M. et al. 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. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.12, p.105-109, 2008.
- GUERRA, N.R.; MONTEIRO, M.F.M.; SANDES, H.M.M. et al. Detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos através do teste de imunofluorescência indireta. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 33, p. 1423-1426, 2013.
- GUERRA, R.M.S.N.C.; FEITOSA JÚNIOR, A.B.; SANTOS, H.P. et al. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. *Ciência Rural*, v. 38, p. 833-835, 2008.
- GUIMARÃES, J.D.; ALVES, N.G.; COSTA, E.P. et al. Eficiências reprodutiva e produtiva em vacas das raças Gir, Holandês e cruzadas Holandês x Zebu. *Ver. Bras. Zootec.*, v. 31, p. 641-647, 2002.
- HAJI, I.J.; SUGIMOTO, C.; KAJINO, K. et al. Determination of the prevalence of trypanosome species in cattle from Monduli district, northern Tanzania, by loop mediated isothermal amplification. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 47, p. 1139-1143, 2015.
- HOSMER JR, D.W.; LEMESHOW, S. *Applied logistic regression*. New York: John Wiley & Sons, 1989. 307p.
- JOHNSON, C. M. Bovine trypanosomiasis in Panama. *Am. J. Trop. Med.*, v. 21, p. 289-297, 1941.

- JONES, T.W.; DÁVILA, A.M.R. *Trypanosoma vivax* – out of Africa. *Trends Parasitol.*, v. 12, p. 99-101, 2001.
- JORDAN, A.M. Recent development in the ecology and methods of control of tsetse flies (*Glossina* species (Diptera: Glossinidae)): a review. *Bull. Entomol. Res.*, v. 67, p. 523-574, 1974.
- KALU, U.A. Current status of tsetse fly and animal trypanosomosis on the Jos Plateau, Nigeria. *Prev. Vet. Med.*, v. 27, p. 107-113, 1996.
- KARIMURIBO, E.D.; MORRISON, L.J.; BLACK, A. et al. Analysis of host genetic factors influencing African trypanosome species infection in a cohort of Tanzanian *Bos indicus* cattle. *Vet. Parasitol.*, v. 179, p. 35-42, 2011.
- KATENDE, J.M.; MUSOKE, A.J.; NANTULYA, V.M. et al. A new method for fixation and preservation of trypanosomal antigens for use in the indirect immunofluorescence antibody test for diagnosis of bovine trypanosomiasis. *Trop. Med. Parasitol.*, v. 38, p. 41-44, 1987.
- KIMETO, B.A.; MUGERA, G.M.; NYAGA, P.N. Haemorrhagic pancarditis in cattle infected with *Trypanosoma vivax*. *Vet. Parasitol.*, v. 34, p. 295-301, 1990.
- LEGER, M.; VIENNE, M. Epizootie à trypanosomes chez les bovidés de la Guyane Française. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 12; p. 258-266, 1919.
- LETA, S.; ALEMAYEHU, G.; SEYOUM, Z. et al. Prevalence of bovine trypanosomosis in Ethiopia: a meta-analysis. *Parasit. Vectors*, v. 9, p. 1-9, 2016.
- LINHARES, G.F.C.; DIAS FILHO, A.M.R.; FERNANDES, P.R. et al. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). *Ciê. Anim. Bras.*, v. 7, p. 455-460, 2006.
- MACLENNAN, K.J.R. A staining technique for the identification of trypanosomes in thick blood films. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 51, p. 301-302, 1957.
- MADRUGA, C.R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanosoma (Duttonella) vivax* no Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 13, Suppl. 1, p. 46-47, 2004.
- MADRUGA, C.R. Epidemiologia do *Trypanosoma vivax* no Brasil. *Cien. Anim. Bras.*, Suppl. 1, p. 1-10, 2009.
- MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F.R.; CAVALCANTE-GOES, G. et al. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 101, p. 801-807, 2006.
- MAGONA, J.W.; WALUBENGO, J.; ODIIT, M. et al. Implications of the re-invasion of Southeast Uganda by *Glossina pallidipes* on the epidemiology of bovine trypanosomosis. *Vet. Parasitol.*, v. 128, p. 1-9, 2005.
- MAGONA, J.W.; WALUBENGO, J.; ODIMIN, J.J. Differences in susceptibility to trypanosome infection between Nkedi Zebu and Ankole cattle, under field conditions in Uganda. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v. 98, p. 785-792, 2004.
- MAGONA, J.W.; WALUBENGO, J.; ODIMIN, J.T. Acute haemorrhagic syndrome of bovine trypanosomosis in Uganda. *Acta Trop.*, v. 107, p. 186-191, 2008.

- MAJEHODUNMI, A.O.; FAJINMI, A.; DONGKUM, C. et al. A longitudinal survey of African animal trypanosomosis in domestic cattle on the Jos Plateau, Nigeria: prevalence, distribution and risk factors. *Parasit. Vectors*, v. 6, p. 1-10, 2013.
- MAJIWA, P.A.; WEBSTER, P. A repetitive deoxyribonucleic acid sequence distinguishes *Trypanosoma simiae* from *T. congolense*. *Parasitol.*, v. 3, p. 543-548, 1987.
- MALELE, II; MAGWISHA, H.B.; NYINGILILI, H.S. et al. Multiple *Trypanosoma* infections are common amongst *Glossina* species in the new farming areas of Rufiji district. Tanzania. *Parasit. Vectors*, v. 4, p. 217, 2011.
- MAPA. *Manual do sistema nacional de informação zoonitária – SIZ*. 2 ed. Brasília-DF, 2013. 46p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Manual%20SIZ/Manual_SIZ_09_12_2013.pdf>. Acessado em: 22 de abril de 2016.
- MARTINS, C.F.; MADRUGA, C.R.; KOLLER, W.W. et al. *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.*, v. 28, p. 51-56, 2008.
- MASAKE, R.A.; NANTULYA, V.M.; PELLÉ, R. et al. A species-specific antigen of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* detectable in the course of infection is encoded by a differentially expressed tandemly reiterated gene. *Mol. Biochem. Parasitol.*, v. 64, p. 207-218, 1994.
- MASIGA, D.; SMYTH, A.; HAYES, P. et al. Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. Parasitol.*, v. 22, p. 909-918, 1992.
- MATEUS, G.; GONZALEZ, M. Característica de un brote de *Trypanosoma vivax* en Colombia. *Rvta. Cub. Cienc. Vet.*, v. 22, p. 167-172, 1991.
- MBEWE, N.J.; NAMANGALA, B.; SITALI, L. et al. Prevalence of pathogenic trypanosomes in anaemic cattle from trypanosomosis challenged areas of Itezhi-tezhi district in central Zambia. *Parasit. Vectors*, v. 8, p. 1-6, 2015.
- MEKATA, H.; KONNAI, S.; WITOLA, W.H. et al. Molecular detection of trypanosomes in cattle in South America and genetic diversity of *Trypanosoma evansi* based on expression-site-associated gene 6. *Infect. Genet. Evol.*, v. 9, p. 1301-1305, 2009.
- MEKURIA, S.; GADISSA, F. Survey on bovine trypanosomosis and its vector in Metekel and Awi zones of Northwest Ethiopia. *Acta Trop.*, v. 117, p. 146-151, 2011.
- MELO, S.A.; BARROS, A.C.E.; COSTA, F.B. et al. Bovine trypanosomiasis an emerging disease in Maranhão state-Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, v. 11, p. 853-856, 2011.
- MIHRET, A.; MAMO, G. Bovine trypanosomosis in three districts of East Gojjam Zone bordering the Blue Nile River in Ethiopia. *J. Infect. Developing Countries*, v. 1, p. 321-325, 2007.
- MOLOO, S.K.; KUTUZA, S.B. Comparative study on the infection rates of different laboratory strains of *Glossina* species by *Trypanosoma congolense*. *Med. Vet. Entomol.*, v. 2, p. 253-257, 1988.
- MORLAIS, I.; RAVEL, S.; GRÉBAUT, P. et al. New molecular marker for *Trypanosoma (Duttonella) vivax* identification. *Acta Trop.*, v. 80, p. 207-213, 2001.

- MURRAY, M.; MURRAY, P.K.; MCINTYRE, W.I. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 71, p. 325-326, 1977.
- MWONGELA, G.N.; KOVATCH, R.M.; FAZIL, M.A. Acute *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle in Coast Province, Kenya. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, v. 13, p. 63-69, 1981.
- NAKAYIMA, J.; NAKAO, R.; ALHASSAN, A. et al. Molecular epidemiological studies on animal trypanosomiasis in Ghana. *Parasit. Vectors*, v. 5, p. 1-7, 2012.
- NJIRU, Z.; OUMA, J.; BATETA, R. et al. Loop-mediated isothermal amplification test for *Trypanosoma vivax* based on satellite repeat DNA. *Vet. Parasitol.*, v. 180, p. 358-362, 2011.
- OHAGA, S.O.; KOKWARO, E.D.; NDIEGE, I.O. et al. Livestock farmers' perception and epidemiology of bovine trypanosomosis in Kwale District, Kenya. *Prev. Vet. Med.*, v. 80, p. 24-33, 2007.
- OLIVEIRA, J.B.; HERNÁNDEZ-GAMBOA, J.; JIMÉNEZ-ALFARO, C. et al. First report of *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle from Costa Rica. *Vet. Parasitol.*, v.163, p.136-139, 2009.
- OLIVEIRA, L.F. *Situação epidemiológica da brucelose bovina e caracterização da pecuária bovina no estado de Minas Gerais*, 2012. 2016. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- OLIVEIRA, L.H. *Manejo de ordenha sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de vacas F1 Honladês-Gir*. 2010. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- OSÓRIO, A.L.A.R.; MADRUGA, C.R.; DESQUESNES, M. et al. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World – A Review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 103, p. 1-13, 2008.
- OTTE, M.J.; ABUABARA, J.Y.; NIETO, M.I. et al. Incidence of *Trypanosoma vivax* infection on three cattle farms on the North Coast of Colombia. *Acta Vet. Scand. Suppl.*, v. 84, p. 104-106, 1988.
- OTTE, M.J.; ABAUBARA, J.Y.; WELLS, E.A. *Trypanosoma vivax* in Colombia: epidemiology and production losses. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, v. 26, p. 146-156, 1994.
- PAGABELEGUEM, S.; SANGARÉ, M.; BENGALY, Z. et al. Climate, cattle rearing systems and african animal trypanosomosis risk in Burkina Faso. *PLoS One*, v. 7, p. 1-6, 2012.
- PAIVA, F.; LEMOS, R.A.A.; NAKASATO, L. et al. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. I. Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 9, p. 135-141, 2000.
- PAIVA, F.; LEMOS, R.A.A.; OSHIRO, E.T. et al. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 6, Supp. I, p. 349, 1997.
- PEREIRA, L.J.; ABREU, A.C.V.V. Ocorrência de tripanosomas em bovinos e ovinos na região Amazônica. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.13, p.17-21, 1978.
- PIMENTEL, D.S.; RAMOS, C.A.N.; RAMOS, R.A.N. et al. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 185, p. 286-289, 2012.

- PLATA, R. Nota preliminar sobre una trypanosomiasis del ganado vacuno em Bolívar. *Rev. Med. Vet. Bogotá*, v. 3, p. 77-79, 1931.
- PLATT, K.B.; ADAMS, L.G. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for detecting *Trypanosoma vivax* in South America cattle. *Res. Vet. Sci.*, v. 21, p. 53-58, 1976.
- QUISPE, P.; CHÁVEZ, A.; CASAS, E. et al. Prevalencia de *Trypanosoma vivax* en bovinos de la provincia de Coronel Portillo, Ucayali. *Rev. Inv. Vet. Perú*, v.14, p.161-165, 2003.
- REBENSKI, D.E.; WINGER, E.M.; ROGOVIC, B. et al. Improved methods for the diagnosis of African trypanosomosis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 94, p. 249-253, 1999.
- ROGERS, D.J. A general model for the African trypanosomiasis. *Parasitol.*, v. 97, p. 193-212, 1988.
- ROUBAUD, E.; COLAS-BELCOUR, J.; GASCHEN, H. Le trypanosome des Antilles, *Trypanosoma viannae* a – t – il perdu l’aptitude a evoluer chez les glossines? *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 31, p. 374-377, 1938.
- ROWLINGSON, B.; DIGGLE, P. (2015). *SplanCs: Spatial and Space-Time Point Pattern Analysis*. R package version 2.01-37. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=splanCs>>. Acessado em 01 abr. 2016.
- SALIM, B.; BAKHEIT, M.A.; SALIH, S.E. et al. An outbreak of bovine tripanosomiasis in the Blue Nile State, Sudan. *Parasit. Vectors*, v. 4, p. 1-5, 2011.
- SANDOVAL, E.; ESPINOZA, E.; GONZÁLEZ, N. et al. Encuesta serohematológica em bovinos tripanosusceptibles de dos unidades agroecológicas del Valle de Aroa. *Rev. Científica, FCV-Luz*, v. 8, p. 253-258, 1998.
- SALGADO, B.S.; BATTAGLIA, C.T.; STUCHI, R.S. et al. What is your diagnosis? Lymphadenopathy in a cow with severe anemia. *Vet. Clin. Pathol.*, v. 40, p. 103-104, 2011.
- SCHOFIELD, C.J.; KABAYO, J.P. Tripanosomiasis vector control in Africa and Latin America. *Parasit. Vectors*, v. 1, p. 1-7, 2008.
- SECK, M.T.; BOUYER, J.; SALL, B. et al. The prevalence of African animal trypanosomes and tsetse presence in Western Senegal. *Parasite*, v. 17, p. 257-265, 2010.
- SEIDL, A.; DÁVILA, A.M.R.; SILVA, R.A. Estimated financial impact of *Trypanosoma vivax* on the Brazilian Pantanal and Bolivian lowlands. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 94, p. 269-272.
- SHAW, J.J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. *Anim. Trop. Med. Parasitol.*, v. 66, p. 25-32, 1972.
- SILVA, A.S.; COSTA, M.M.; POLENZ, M.F. et al. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v. 39, p. 2550-2554, 2009.
- SILVA, A.S.; GARCIA-PEREZ, H.A.; COSTA, M.M. et al. Horses naturally infected by *Trypanosoma vivax* in southern Brazil. *Parasitol. Res.*, v.108, p.23-30, 2011.
- SILVA, R.A.M.S.; DA SILVA, J.A.; SCHNEIDER, R.C. et al. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 91, p. 561-562, 1996.
- SILVA, R.A.M.S.; DÁVILA, A.M.R. Bovine trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in the German Bush province, Bolivia. *Parasitol. Día*, v. 25, n. 1-2, 2001.

- SILVA, R.A.M.S.; EGÜEZ, A.; MORALES, G. et al. Bovine trypanosomosis in Bolivian and Brazilian lowlands. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 93, p. 29-32, 1998a.
- SILVA, R.A.M.S.; MORALES, G.; EULERT, E. et al. Outbreaks of trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in cattle in Bolivia. *Vet. Parasitol.*, v. 76, p. 153-157, 1998b.
- SILVA, R.A.M.S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L. et al. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* – Biología, Diagnóstico e Controle. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Corumbá, Brasil, 2002. 140p.
- SILVA, T.M.; OLINDA, R.G.; RODRIGUES, C.M. et al. Pathogenesis of reproductive failure induced by *Trypanosoma vivax* in experimentally infected pregnant ewes. *Vet. Res.*, v. 44, p. 1-9, 2013.
- SIMÕES, D.; SÁNCHEZ, M.; GONZÁLEZ, Y. et al. Brote de tripanosomosis en un rebaño doble propósito del municipio Mara del estado Zulia, Venezuela. *Ciencia*, v. 17, p. 124-132, 2009.
- SINSHAW, A.; ABEBE, G.; DESQUESNES, M. et al. Biting flies and *Trypanosoma vivax* infection in three highland districts bordering Lake Tana, Ethiopia. *Vet. Parasitol.*, v. 142, p. 35-46, 2006.
- SOLANO, P.; MICHEL, J.F.; LEFRANÇOIS, T. et al. Polymerase chain reaction as a diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Vet. Parasitol.*, v. 86, p. 95-103, 1999.
- SOW, A.; GANABA, R.; PERCOMA, L. et al. Baseline survey of animal trypanosomosis in the region of the *Boucle du Mouhoun*, Burkina Faso. *Res. Vet. Sci.*, v. 94, p. 573-578, 2013.
- SOW, A.; SIBIDÉ, I.; BENGALY, Z. et al. Field detection of resistance to isometamidium chloride and diminazene aceturate in *Trypanosoma vivax* from the region of the Boucle du Mouhoun in Burkina Faso. *Vet. Parasitol.*, v.187, p.105-111, 2012.
- SPECHT, E.J.K. Prevalence of bovine trypanosomosis in Central Mozambique from 2002 to 2005. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 75, p. 73-81, 2008.
- STEUBER, S.; CAILLET, J.Y.; HORCHINER, F. Serodiagnosis of African trypanosomosis using a chemiluminescent enzyme immunoassay. *Acta Trop.*, v. 44, p. 459-460, 1987.
- STEVENSON, P.; OKECK, G.; MWENDIA, C. et al. Comparison of the isometamidium-based trypanocidal drugs Samorin[®] and Veridium[®] in cattle under field conditions at Nguruman, Kenya. *Acta Trop.*, v.77, p.195-201, 2000.
- SUÁREZ, C.; GARCÍA, F.; ROMÁN, D. et al. Factores de riesgo a la tripanosomosis bovina en explotaciones ganaderas de Venezuela. *Zootec.Trop.*, v. 27, p. 363-372, 2009.
- TADESSE, A.; TSEGAYE, B. Bovine trypanosomosis and its vectors in two districts of Bench Maji zone, South Western Ethiopia. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 42, p. 1757-1762, 2010.
- TAFUR, M.; CHÁVEZ, A.; CASAS, E. et al. Prevalencia de *Trypanosoma vivax* en bovinos de selva alta en la provincia de Chachapoyas, Amazonas. *Rev. Inv. Vet. Perú*, v. 13, p. 94-97, 2002.
- TAKEET, M.I.; FAGBEMI, B.O.; DE DONATO, M. et al. Molecular survey of pathogenic trypanosomes in naturally infected Nigerian cattle. *Res. Vet. Sci.*, v. 94, p. 555-561, 2013.
- TAMASAUKAS, R.; PURROY, R.; RODRÍGUEZ, H.C. et al. Seroprevalencia de tripanosomiasis y brucelosis bovina em fincas integradas a la producción de maíz, de la zona

- alta de los municipios Roscio y Ortiz, estado Guárico, Venezuela. *Rev. Científica*, v. 12, Suppl. 2, p. 630-634, 2002.
- TAMASAUKAS, R.; ROA, N.; COBO, M. Trypanosomosis por *Trypanosoma vivax* en búfalos (*Bubalis bubalis*) en dos fincas del estado Guárico, Venezuela. *Rev. Científica, FCV-Luz*, v. 16, p. 575-578, 2006.
- TAMASAUKAS, R.; SILVA, A.; FLORIO-LUIS, J. et al. Agroecoepidemiología de tripanosomosis en ganadería doble propósito en el sistema de Riego Río Guárico, Venezuela. Etapa I. *Actas Iberoam. Conserv. Anim.*, v. 4, p. 285-288, 2014.
- TEJERA, E. Trypanosomiasis animals au Venezuela. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 13, p. 297-305, 1920.
- TEREFE, E.; HAILE, A.; MULATU, W. et al. Phenotypic characteristics and trypanosome prevalence of Mursi cattle breed in the Bodi and Mursi districts of South Omo zone, southwest Ethiopia. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 47, p. 485-493, 2015.
- THRUSFIELD, M. *Veterinary epidemiology*. 3 ed. Cambridge: Blackwell Science, 2005. 625p.
- THUMBI, S.M.; MCODEMBA, F.A. MOSI, R.O. et al. Comparative evaluation of three PCR base diagnostic assays for the detection of pathogenic trypanosomes in cattle blood. *Parasit. Vectors*, v. 1, p. 46, 2008.
- TORR, S.J.; MWANDWIRO, T.N.C. Interaction between cattle and biting flies: effects on the feeding rate of tsetse. *Med. Vet. Entomol.*, v. 14, p. 400-409, 2000.
- TORR, S.J.; MWANGWIRO, T.N.C.; HALL, D.R. The effects of host physiology on the attraction of tsetse (Diptera: Glossinidae) and stomoxys (Diptera: Muscidae) to cattle. *Bull. Ent. Res.*, v. 96, p. 71-84, 2006.
- UZCANGA, G.L.; PÉREZ-ROJAS, Y.; CAMARGO, R. et al. Serodiagnosis of bovine trypanosomosis caused by non-tsetse transmitted *Trypanosoma (Duttonella) vivax* parasites using the soluble form of a *Trypanozoon* variant surface glycoprotein antigen. *Vet. Parasitol.*, v. 218, p. 31-42, 2016.
- VAN DEN BOSSCHE, P.; SHUMBA, W.; MAKHAMBERA, P. The distribution and epidemiology of bovine trypanosomosis in Malawi. *Vet. Parasitol.*, v. 88, p. 163-176, 2000.
- VENTURA, R.; PAIVA, F.; SILVA, R. et al. *Trypanosoma vivax*: characterization of the spliced-leader gene of a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic spacer sequence. *Exp. Parasitol.*, v. 99, p. 37-48, 2001.
- WELLS, E.A. Animal trypanosomiasis in South America. *Prev. Vet. Med.*, v. 2, p. 31-41, 1984.
- WELLS, E.A.; BETANCOURT, A.; PAGE, W.A. The epidemiology of bovine trypanosomiasis. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, v. 2, p. 111-125, 1970.
- WELLS, E.A.; BETANCOURT, A.; RAMIREZ, L.E. Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the New World. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 71, p. 448-449, 1977.
- WELLS, E.A.; RAMIREZ, L.E.; BETANCOURT, A. *Trypanosoma vivax* in Colombia: Interpretations of field results. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, v. 14, p. 141-150, 1982.
- WOO, P.T.K. The haematocrit centrifuge for detection of trypanosomes in blood. *Can. J. Zool.*, v.47, p. 921-923, 1969.

WRIGHT, P.F.; NILSSON, E.; VAN, R. et al. Standardisation and validation of enzyme-linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infections disease diagnosis. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, v. 12, p. 435-450, 1993.

ZAR, J.H. 2010. *Biostatistical analysis*. 5 ed. New Jersey: Prentice Hall, 2010. 944p.

ANEXO

BRUCELOSE EM BOVINOS E BUBALINOS Estudo epidemiológico

01-Identificação: Município: _____ REGIÃO: _____ UF: _____ Proprietário: _____ Propriedade: _____ Código de cadastro no serviço de defesa: _____	02 – Data da colheita _____ / _____ / _____ 03 – Código do rebanho no estudo (9 dígitos) _____ 04 – Coordenadas Lat: _____ ° _____ ‘ _____ “ Lon _____ ° _____ ‘ _____ “ Altitude _____
---	---

05- Tipo da Exploração: corte leite mista
 06- Tipo de Criação: confinado semi-confinado extensivo
 07- N° de Ordenhas por dia: 1 ordenha 2 ou 3 ordenhas Não ordenha
 08- Tipo de Ordenha: manual mecânica ao pé mecânica em sala de ordenha Não ordenha
 09- Produção de leite: a) N° de vacas em lactação: _____ b) Produção diária de leite na fazenda: _____ litros
 10- Usa inseminação artificial? não usa inseminação artificial e touro usa só inseminação artificial
 11- Raça predominante - Bovinos: zebu europeu de leite europeu de corte mestiço outras raças
 - Bubalinos: murrâh mediterrâneo carabao jaffarabadi outras raças

12(a)- Bovinos existentes								12(b)- Bubalinos existentes											
Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)				Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)					
	Total	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24		> 24	Total	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24	> 24

13- Outras espécies domésticas na propriedade: ovinos/caprinos equídeos suínos aves de quintal ou comerciais cão gato
 14- Espécies silvestres em vida livre na propriedade: não tem cervídeos capivaras felídeos marsupiais (gambá) macacos outras:.....
 15- Alguma vaca/búfala abortou nos últimos 12 meses? não sim não sabe
 16- O que faz com o feto abortado e a placenta? enterra/joga em fossa/queima alimenta porco/cão não faz nada
 17- Faz testes para diagnóstico de brucelose? não sim, regularidade dos testes: uma vez ao ano duas vezes ao ano quando compra animais
 qd. há aborto na fazenda qd. exigido para trânsito/eventos/crédito
 18- Faz testes para diagnóstico de tuberculose? não sim, regularidade dos testes: uma vez ao ano duas vezes ao ano quando compra animais
 quando exigido para trânsito/eventos/crédito
 19- Nos últimos 2 anos houve introdução de bovinos ou bubalinos? não sim
 Onde/de quem: em exposição em leilão/feira de comerciante de gado diretamente de outras fazendas
 20- Introduziu fêmeas ou machos (bovinos ou bubalinos) com finalidade de reprodução? não sim
 Onde/de quem: em exposição em leilão/feira de comerciante de gado diretamente de outras fazendas
 21- Vende fêmeas ou machos para reprodução? não sim
 A quem/onde: em exposição em leilão/feira a comerciante de gado diretamente a outras fazendas
 22- Vacina contra brucelose com a B19? Não sim, apenas fêmeas até oito meses de idade sim, fêmeas de qualquer idade.
 23- Local de abate das fêmeas e machos adultos: na própria fazenda em estabelecimento sem inspeção veterinária
 em estabelecimento de abate com inspeção veterinária não abate
 24- Aluga pastos em alguma época do ano? não sim
 25- Tem pastos em comum com outras propriedades? não sim
 26- Compartilha outros itens com outras propriedades? não sim, qual: insumos equipamentos funcionários
 27- Existem na propriedade áreas alagadiças às quais o gado tem acesso? não sim
 28- Existe na propriedade área(s) onde o gado permanece concentrado durante o dia ou à noite? não sim, qual: palafitas outra:.....
 29- Tem piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto? não sim
 30- A quem entrega leite? cooperativa laticínio direto ao consumidor não entrega
 31- Resfriamento do leite: não faz faz, como: em resfriador ou tanque de expansão próprio em resfriador ou tanque de expansão coletivo
 32- A entrega do leite é feita a granel? não sim
 33- Produz queijo, manteiga ou outro lácteo na propriedade? não sim, finalidade: p/ consumo próprio p/ venda
 34- Consome leite cru ou derivado lácteo produzido com leite cru? não sim
 35- Tem assistência veterinária? não sim, de que tipo? veterinário da cooperativa veterinário particular
 36- Alimenta bovinos com soro de leite bovino? não sim
 37- Compartilha aguadas/bebedouros com animais de outra(s) propriedade(s)? não sim
 38- Propriedade possui área para pouso de boiada em trânsito? não sim
 39- Classificação da propriedade? rural clássica aldeia indígena assentamento periferia urbana

NOME DO FUNCIONÁRIO DO IMA RESPONSÁVEL _____ ASSINATURA _____