

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 12 (1)

February 2019

Article link

<http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=628&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES.



Tripanossomíase bovina: uma breve revisão

Bovine Trypanosomiasis: a brief review

C. F. R. Felipe; A. Kataoka

Universidade Federal de Mato Grosso

Author for correspondence: cristianmedvet@gmail.com

Resumo A tripanossomíase bovina é considerada uma doença de ocorrência mundial tendo uma larga distribuição e importância econômica, principalmente na África, seu continente de origem. No Brasil, o agente etiológico mais patogênico é o *Trypanosoma vivax*. Os sinais clínicos dos bovinos acometidos pela tripanossomíase são considerados inespecíficos e incluem anemia, febre, letargia, perda progressiva de peso, alterações neurológicas, alterações na visão, dentre outros. O diagnóstico pode ser realizado por métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares que apresentam variações na sensibilidade e especificidade dos testes. Os impactos econômicos causados por esta doença estão relacionados com a queda na produção, infertilidade, aborto, retardo no crescimento e mortalidade, sendo assim de suma importância o seu diagnóstico para se implementar corretos métodos de controle e profilaxia.

Palavras Chave: *Trypanosoma vivax*, sinais clínicos, diagnóstico, tratamento

Abstract Current bovine trypanosomiasis is a globally occurring disease with a long distribution and economic importance, most in Africa, its continent of origin. In Brazil, the most pathogenic etiologic agent this disease is *Trypanosoma vivax*. The clinical symptoms developed by bovine are essential nonspecific including anemia, fever, lethargy, progressive loss of weight, neurological, instance in sight among others. The diagnosis can be performed by parasitological, serological and molecular methods that show variations in the sensitivity and specificity of the tests. The economic impacts caused by bovine trypanosomiasis are related to a decrease in production, infertility, abortion, growth retardation and mortality, and therefore the diagnosis is really importance in order to establish methods of control and prophylaxis.

Key words: *Trypanosoma vivax*, clinical signs, diagnostic, treatment

Contextualização e análise

Tripanossomíase é o nome dado à doença causada por um grupo de parasitos protozoários pertencentes ao gênero *Trypanosoma*. Esses protozoários acometem não somente bovinos, onde causam grandes prejuízos econômicos, mas também outros mamíferos, inclusive os humanos, sendo considerada também uma zoonose de grande importância (Gonzatti et al., 2014).

A tripanossomíase bovina é considerada uma doença de ocorrência mundial tendo uma larga distribuição e importância econômica, principalmente na África, seu continente de origem (Dávila et al., 2003; Silva et al., 2003). Na África, o *Trypanosoma vivax* é considerado o mais patogênico e importante tripanossoma de bovinos, que vêm se expandindo para outras áreas como América Central, América do Sul e Caribe (Silva et al., 2003).

Na América do Sul, as espécies de tripanossomas mais importantes são *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) e o *Trypanosoma vivax* (*T. vivax*). O *T. cruzi* é o agente etiológico causador da doença de Chagas em humanos e cães, também conhecida como Tripanossomíase Americana. No Brasil, o *T. evansi* acomete principalmente equinos, porém estudos afirmam que esse parasita também pode causar doença subclínica em bovinos (Ngeranwa et al., 1993).

Da Silva et al. (2007), relataram o primeiro caso de *T. evansi* em bovinos na região de Santa Catarina, onde no esfregaço sanguíneo também foi detectado *Anaplasma* sp. Os animais apresentaram sinais clínicos de anorexia, apatia, emagrecimento progressivo, fraqueza, mucosas pálidas; foram tratados para anaplasmose e babesiose, no entanto, sem sucesso. Os autores afirmam que a presença

de outros agentes, tais como *Babesia* sp. e *Anaplasma* sp., podem mascarar o diagnóstico de tripanossomíase em bovinos.

Um estudo feito por Davila et al. (2003) no Pantanal, mostrou que a prevalência de *T. evansi* nos bovinos é inferior à de *T. vivax*, isto é, 8,10% e de 44,70% respectivamente, confirmados através do método de reação em cadeia polimerase (PCR). Esta diferença, segundo os autores, pode estar relacionada à baixa patogenicidade do *T. evansi* para ruminantes, o que acarreta uma leve parasitemia, dificultando a transmissão para os bovinos. O *T. vivax* é considerado o mais patogênico causador de tripanossomíase em bovinos, também acomete ovinos e caprinos (Dávila & Silva, 2000).

Os sinais clínicos dos animais decorrentes da tripanossomíase bovina incluem anemia, febre, letargia, perda progressiva de peso, alterações neurológicas, alterações na visão, sendo considerados sinais inespecíficos, que se não forem avaliados de forma a diagnosticar precocemente a doença para tratamento, podem o levar à morte (Silva et al., 2003).

O diagnóstico da tripanossomíase bovina pode ser realizado por métodos parasitológicos, sorológicos ou moleculares, porém apresentam variações na sensibilidade e especificidade dos testes. Usualmente o diagnóstico é feito com uma combinação entre o quadro clínico e as técnicas laboratoriais (Silva et al., 2003).

De acordo com um estudo feito por Abrão et al. (2009) os impactos econômicos dessa doença sobre rebanho bovino leiteiro no estado de Minas Gerais, ocorreu devido a uma significativa diminuição da produção de leite e taxa de prenhes, acarretou um aumento no descarte dos animais, também observaram um alto custo com o tratamento desses animais, resultando em redução nos lucros da produção leiteira.

Nesse contexto, a tripanossomíase bovina pode ser considerada uma importante causa de prejuízos econômicos para o produtor, sendo de suma importância seu correto diagnóstico para se instituir métodos de controle e profilaxia.

Ocorrência de Tripanossomíase bovina no Brasil

No Brasil, a ocorrência do *T. vivax* em bovinos foi relatada pela primeira vez por Boulhosa (1946), no estado do Pará, que sugeriu que esse protozoário pode ter sido introduzido no país pela importação de bovinos do Oeste da África nos séculos XVII e XVIII. Em 1972, Shaw e Lainson (1972) relataram a ocorrência desse tripanossoma em búfalos, também no estado do Pará. O primeiro relato de tripanossomíase por *T. vivax* em bovinos fora da região norte, ocorreu no ano de 1995, na região de Poconé em Mato Grosso, onde os autores examinaram tanto bovinos zebuínos puros (*Bos taurus taurus*) quanto cruzados (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*), com idades variando de 1 a 9 anos (Silva et al, 1996). Desde então, esse parasito

que estava restrito ao norte do país vem se espalhando em outras regiões.

Após o primeiro registro de *T. vivax* em bovinos criados na região do Pantanal no Estado de Mato Grosso do Sul, Paiva et al. (2000)^a realizaram um acompanhamento clínico e laboratorial de rebanhos bovinos de cinco propriedades no período de abril de 1997 a junho de 1999, sendo encontrado *T. vivax* em duas delas.

Linhares et al. (2006) relataram pela primeira vez a ocorrência de *T. vivax* no estado do Tocantins, os parasitas foram observados em esfregaços sanguíneos de nove animais entre 16 examinados, pertencentes a um rebanho composto de 250 animais da raça Brahman, que apresentavam sinais clínicos de emagrecimento, edema de barbeta, febre e palidez de mucosa, sendo estes bovinos oriundos do Estado de São Paulo de uma área livre do parasito. Em conclusão, os autores relacionaram o surto ao fato da introdução de animais susceptíveis de uma área livre em uma área endêmica, deste modo, não apresentando resistência ao parasito.

Em Minas Gerais Carvalho et al. (2008), detectaram presença de protozoários flagelados na forma de tripomastigota característicos de *T. vivax* no esfregaço de sangue de uma vaca que apresentava perda de visão.

Na Paraíba Batista et al. (2008), descreveram dois surtos de tripanossomíase por *T. vivax* em bovinos, identificados em esfregaços da capa leucocitária e mediante a reação em cadeia da polimerase (PCR). No primeiro surto, 14 vacas leiteiras, da raça Pardo Suiço apresentaram acentuada queda na produção, de 15 litros para 2 litros de leite por dia em média, dessas, quatro apresentaram sintomatologia neurológica e vieram a óbito. Já o segundo surto ocorreu em uma propriedade vizinha onde continha 75 vacas, dessas 50 estavam em lactação, 10 adoeceram e sete morreram.

O primeiro caso de tripanossomíase bovina no estado do Maranhão ocorreu em um bezerro em 2003 e foi relatado por Guerra et al. (2008).

Da Silva et al. (2009), relataram a ocorrência de *T. vivax* no Rio Grande do Sul, diagnosticado através da pesquisa em esfregaço sanguíneo e confirmado pela técnica de reação por PCR, de uma vaca, sem raça definida, de dois 2,5 anos de idade que estava no quinto mês de gestação, que estava apresentando alterações neurológicas.

Em Lins, município localizado no estado de São Paulo, Cadioli et al. (2012), fizeram a primeira descrição de um surto de *T. vivax*. Nesta ocasião, os animais acometidos apresentaram sinais inespecíficos e três vacas apresentaram sintomatologia nervosa. Hemoparasitas flagelados foram observados em esfregaços sanguíneos e a espécie de tripanossoma foi diagnosticada como *T. vivax* por PCR. Os autores atribuíram o surto, a entrada de animais oriundos de uma região

endêmica localizada no município de Invinhema, Mato Grosso do Sul, para uma região não endêmica, no caso uma propriedade rural do município de Lins (SP).

Com o objetivo de avaliar a detecção de anticorpos IgG anti *T. vivax* em bovinos do estado de Pernambuco, Guerra et al. (2013) analisaram 2053 amostras de soro sanguíneo através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) onde os dados obtidos permitiram a caracterização do Estado de Pernambuco como uma área de instabilidade enzoótica e sugeriram ser endêmica para *T. vivax*.

Características do *Trypanosoma vivax*

Várias espécies de tripanossoma podem diferir no tamanho e forma do corpo, na posição do núcleo e cinetoplasto, bem como no grau do desenvolvimento da membrana ondulante e do flagelo, características que muitas vezes podem ser utilizadas para diagnóstico. O *T. vivax* é um protozoário pertencente à família Trypanosomatidae, com subgênero *Dutonella*, e segundo a sua forma de transmissão ao hospedeiro definitivo, está classificado na seção salivária, que engloba todos os tripanossomas transmitidos através da saliva (Hoare, 1972).

Essa espécie pode medir entre 20 a 26 µm de comprimento, apresentando um único flagelo livre. O cinetoplasto é em forma de meia lua e grande, localizado na porção terminal do parasito, sendo a sua posição um fator de identificação morfológica desta espécie. Ao longo do ciclo de vida, o *T. vivax* pode se apresentar sob várias formas como: amastigota, epimastigota, tripomastigotas e promastigota. As formas tripomastigotas que são as formas infectantes encontradas na corrente sanguínea são basicamente lancetadas, o corpo é alongado e achatado. Ao corte transversal apresenta-se elíptico ou oval e suas extremidades afiladas. A extremidade pela qual avança durante a locomoção pode ser descrita como anterior que termina em um fino ponto, enquanto que o final da extremidade posterior varia na forma, mas geralmente é mais larga, afilando mais abruptamente ou terminando em uma forma rombuda ou ainda apresentando a ponta arredondada (Silva et al., 2003).

Em um relato de caso de tripanossomiase em um bezerro, Guerra et al. (2008), realizaram a biometria do parasito onde foi encontrada forma tripomastigota monomórfica, com final posterior tipicamente arredondado, um flagelo livre, um cinetoplasto grande e terminal e uma membrana ondulante discreta.

Transmissão da Tripanossomiase bovina

Em bovinos, a transmissão da tripanossomiase pode ocorrer de duas formas: cíclica ou biológica, que depende diretamente da presença de vetores, como as moscas do gênero *Glossina* sp. popularmente conhecida como Tsé-

Tsé e, de forma mecânica através de outras moscas hematófagas (Gonzatti et al., 2014).

De acordo com Silva et al. (2003) o *T. vivax* é um protozoário pleomórfico, apresentando apenas a forma de tripomastigota na corrente sanguínea de seu hospedeiro vertebrado, onde se multiplica por fissão binária.

A transmissão cíclica ocorre a partir da ingestão de formas tripomastigotas sanguíneas pela mosca Tsé-Tsé durante o repasto sanguíneo. No intestino da mosca essas formas tripomastigotas se diferenciam em formas pró-cíclicas, que invadem a hemolinfa e se diferenciam em epimastigotas onde perdem a capa de glicoproteína ao invadirem as glândulas salivares. Após intensa multiplicação, a forma epimastigota adquire uma nova capa de glicoproteína superficial e se diferenciam em tripomastigota metacíclica que são as formas infectantes que podem ser inoculadas no hospedeiro mamífero durante o repasto da mosca (Davila et al., 2003).

No continente africano, as moscas Tsé-Tsé estão amplamente presentes, o *T. vivax* é transmitido ciclicamente, ocorrendo desenvolvimento do protozoário no interior da mosca, que é o vetor biológico. Na América do Sul onde as moscas Tsé-Tsé estão ausentes, a transmissão da tripanossomiase bovina se dá mecanicamente por outras espécies de moscas, principalmente as pertencentes à família Tabanidae (Paiva et al., 2000)^b.

Na transmissão mecânica as formas tripomastigotas sanguíneas são transmitidas diretamente do hospedeiro mamífero ao outro pela picada de insetos hematófagos ou por fômites como agulhas contaminadas com sangue (Silva et al., 2003).

A tripanossomiase bovina é endêmica em áreas que possuem condições ideais para a proliferação de seus vetores, sendo considerados de maior importância as moscas do chifre (*Stomoxys calcitrans*) e mutucas (tabanídeos). Estes se reproduzem em clima quente e úmido, situação presente no pantanal brasileiro que é caracterizado por ser uma planície tropical que inunda no período das chuvas, compreendido entre outubro a março. O pico da população ocorre no início da estação das chuvas, entre setembro e outubro, porém sua população permanece em grande quantidade até o final da estação, este período representa o de maior risco para a transmissão da doença (Silva et al 1998; Silva et al., 2002).

A transmissão do *T. vivax* é facilitada em situações de aglomeração de grande quantidade de bovinos juntamente com presença do vetor, esta situação ocorre em retiros no Pantanal, onde os pecuaristas levam o gado para regiões mais elevadas durante o período de inundação e também em locais de descanso, onde há a interação bovinos de outras propriedades durante o transporte dos

animais, que comumente é feito a passo para locais de comércio como portos fluviais (Silva et al, 1998).

Segundo Otte e Abuabara (1991), vários dípteros hematófagos podem ser vetores mecânicos da tripanossomíase bovina por *T. vivax*, como as moscas da família Tabanidae, Stomoxydinae e Hippoboscidae, por meio de suas peças bucais quando fazem o repasto sanguíneo em mais de um animal em um período inferior a 10 minutos.

Nesse mesmo sentido, Serra-Freire e Rezende (1981) mostraram em seu estudo que moscas da espécie *Stomoxys calcitrans* alimentadas em ovinos infectados com *T. vivax* foram capazes de realizar a transmissão mecânica após repasto sanguíneo em mais de um animal, porém, em um tempo menor de 15 segundos.

Outra forma mecânica de transmissão é a iatrogênica, decorrente da utilização de uma mesma agulha para administração de medicamentos ou vacinas em vários animais (Paiva et al., 2000)^b.

Um caso de transmissão iatrogênica por compartilhamento de agulha foi relatado por Barbosa et al. (2015), que relataram o primeiro surto de tripanossomíase bovina no estado de Goiás, onde concluíram que foi ocasionado devido ao manejo inadequado durante aplicação de medicamento endovenoso utilizado nos animais evidenciando a importância da correta profilaxia na bovinocultura.

De maneira similar, um surto ocorrido em Mato Grosso foi descrito por Bastos et al. (2013), o qual foi relacionado ao uso compartilhado de seringa e agulha na 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.

Sinais clínicos e laboratoriais

A tripanossomíase bovina é uma doença que em geral apresenta um curso clínico crônico podendo ter animais assintomáticos ou com sinais clínicos inespecíficos como: perda de apetite, febre, letargia, fraqueza e mucosas pálidas, sendo que animais com alta parasitemia podem apresentar sinais clínicos de fase aguda da doença como lacrimejamento, conjuntivite, diarreia, aborto, ceratite, descarga nasal, icterícia, aumento de linfonodos, edema submandibular e o aparecimento de sinais neurológicos como incoordenação motora, tremores musculares, opistótono, cegueira, estrabismo lateral, hipermetria até a morte (Cadioli et al., 2012).

Batista et al. (2008), descreveram dois surtos de tripanossomíase bovina na Paraíba onde os animais acometidos apresentaram alterações neurológicas como cegueira transitória, incoordenação motora, salivação, opistótono, nistágno, tetania e bruxismo. Todos os animais que apresentaram sintomatologia nervosa morreram. Segundo os mesmos autores as alterações

neurológicas foram decorrentes de meningoencefalites graves com presença de linfócitos, plasmócitos e células morulares que são células inflamatórias.

De acordo com Chamond et al. (2010), fatores associados ao parasita e ao animal infectado podem determinar a gravidade da doença, apresentando alterações hematológicas e nervosas. Os autores afirmam que o período entre a infecção e o aparecimento dos sintomas é variável em função da resistência do hospedeiro, sua imunidade, seu estado nutricional e também em função ao tipo de transmissão, cíclica ou mecânica, e quantidade de inoculo.

Em um estudo com ovinos, Batista et al. (2006) classificaram a infecção por *T. vivax* em duas fases: a fase crônica, caracterizada por temperatura normal e parasitemia baixa, com anemia, e ausência de ganho de peso e a fase aguda, que persistiu por aproximadamente duas semanas e foi caracterizada por elevada parasitemia e febre alta.

Em um experimento conduzido por Schenk et al. (2001), foram inoculados experimentalmente organismos viáveis de *T. vivax* em bezerros da raça Nelore, com aproximadamente 7 meses de vida. Neste experimento, os animais não desenvolveram quadro clínico da tripanossomíase, permanecendo todo o período de observação em bom estado nutricional, sem alteração do comportamento e do apetite. Os resultados foram semelhantes aos obtidos por Paiva et al. (2000^b) que inocularam formas tripomastigotas viáveis de *T. vivax* em cinco bovinos cruzados de Nelore e Hereford, com idade variando entre 16 e 24 meses. Os autores concluíram que animais em bom estado nutricional são capazes de estabelecer um equilíbrio na relação hospedeiro parasita.

Segundo Bezerra et al. (2008), o aborto causado pela doença é comum principalmente na fase aguda, porém outras desordens reprodutivas podem ser causadas por *T. vivax* em bovinos como: repetição de cio, nascimento de crias fracas e natimortos, e anestro nas fêmeas. Silva et al. (2004), estudaram casos de tripanossomíase bovina no Pantanal mato-grossense e na Bolívia, e verificaram a anemia acompanhada de aborto no terço final da gestação um sinal clínico característico da tripanossomíase nessas regiões.

Em bovinos machos a tripanossomíase produz lesões nos órgãos do sistema reprodutor, principalmente no testículo e epidídimo, onde pode ocorrer perda da libido, retardo da puberdade, má qualidade do sêmen e em casos crônicos pode levar à infertilidade. Nesse sentido, Sekoni et al. (2004) estudaram os efeitos da infecção experimental com *T. vivax* sobre as características do sêmen de bovinos mestiços das raças Bunaji e Friezian. Os autores observaram queda na qualidade do sêmen, identificada por uma redução da concentração espermática, diminuição do volume do sêmen, bem como aumento do número de teratozoospermias.

A anemia é o principal achado na tripanossomiase, porém sua natureza ainda não é completamente elucidada. Essa anemia é atribuída à hemólise intra e extravascular, diminuição da eritropoiese e hemorragias. Paiva et al. (2000)^a, acreditam que na fase inicial da doença ocorre hemólise extravascular, atribuída a mecanismos imunomediados de destruição das hemácias, principalmente pelo baço e fígado, na fase tardia, ocorre hematopoese.

A diminuição dos níveis plasmáticos de glicose é comum nos animais com tripanossomiase bovina e pode estar ligada ao fato de o *T. vivax* usar a glicose como fonte de energia, apresentando transportadores específicos em sua membrana plasmática, similares aos das hemácias de mamíferos, o que facilita a captação dessa molécula permitindo ao parasito uma grande eficiência na captação da glicose (Kadima et al., 2000).

Em relação aos valores bioquímicos nos animais infectados pelo *T. vivax*, pode-se verificar uma tendência a diminuição das atividades séricas das enzimas gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), lactato desidrogenase (LDH) e creatina quinase (CK), porém Schenk et al. (2001) encontraram valores de AST, GGT, CK, ureia, creatinina, cálcio e fósforo dentro da faixa de normalidade para a espécie bovina. Da Silva et al. (2009), também relataram nos seus estudos que as funções hepáticas, renais e a atividade enzimática muscular não sofreram alterações pela infecção por esse protozoário.

Métodos de diagnóstico

O diagnóstico da tripanossomiase bovina pode ser feito por meio de métodos parasitológicos, sorológicos ou moleculares, sendo os métodos parasitológicos, os mais utilizados no Brasil. Cada técnica de diagnóstico possui especificidade e sensibilidade diferentes e a escolha dependerá das

instalações laboratoriais disponíveis e do objetivo do diagnóstico (Madruga, 2004).

Os métodos parasitológicos são considerados altamente específicos, porém sua sensibilidade é relativamente baixa, pois a proporção de falsos negativos é alta. A sensibilidade para um diagnóstico de tripanossomiase é muito variável em relação ao estágio da infecção. Na fase inicial, a sensibilidade é considerada alta devido à grande quantidade de parasitas que se multiplicam ativamente no sangue na ausência de controle imunológico feito pelo organismo nessa fase. Durante a fase crônica, a sensibilidade é considerada baixa, devido à resposta imune do hospedeiro que nessa fase já começou a realizar a defesa do organismo, sendo então os parasitas quase nunca detectados no sangue. A sensibilidade é praticamente zero em portadores saudáveis, que são geralmente os animais que apresentam um quadro assintomático da doença nos quais os parasitas nunca são observados (Madruga, 2004; Delafosse et al., 2006).

Em relação aos métodos parasitológicos, o de pesquisa em esfregaços sanguíneos, ou de material aspirado de linfonodo se destacam, pois, nesses métodos as espécies de tripanossoma (Figura 1) podem ser diferenciadas pelo tamanho, formato do corpo, posição do núcleo e do cinetoplasto e grau de desenvolvimento da membrana ondulante e do flagelo (Silva et al., 2002). Esse teste possui boa especificidade, mas requer pelo menos 104-105 parasitas/mL, o que torna a sua sensibilidade muito baixa (Desquesnes, 2004).

Uma variação do esfregaço sanguíneo é o esfregaço espesso onde se faz a eliminação da hemoglobina 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 colocada sobre a lâmina (MacLennan, 1957).

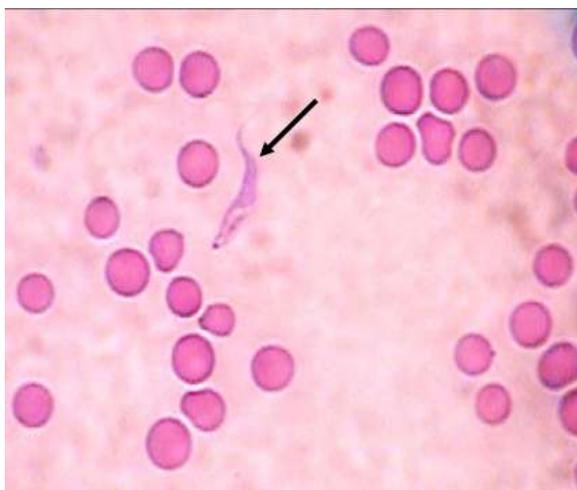


Figura 1 - Esfregaço de sangue bovino evidenciando forma tripomastigota de *T. vivax* (seta). Coloração GIEMSA, objetiva de 40X. Fonte: (Barros, 2009).

Outra técnica parasitológica muito utilizada é a concentração em tubo de microhematócrito, elaborada por Woo (1970), que consiste no preenchimento de dois tubos capilares com amostras de sangue, com posterior centrifugação e leitura do capilar em microscópio para visualização das formas tripomastigotas em movimento, os quais se concentram entre o plasma e a camada leucocitária.

O método de *buffy coat* é outro método parasitológico utilizado no diagnóstico da tripanossomiase. A técnica é uma modificação do método de concentração em tubo de microhematócrito, onde é feita a avaliação do material localizado na transição do plasma e da capa leucocitária. Esse método possui sensibilidade inferior, porém tem a vantagem de poder observar as formas tripomastigotas na lâmina, mesmo após a não visualização de movimentos dos parasitas no microhematócrito (Murray et al., 1977).

Com a finalidade de avaliar a eficácia das técnicas parasitológicas de diagnósticos Bastos et al. (2015), realizaram um experimento com sangue de bovinos leiteiros do estado de Goiás, onde as amostras foram submetidas à pesquisa direta do parasita em: gota de sangue montada entre lâmina e lamínula; lâminas com extensão sanguínea coradas; técnica de Woo; e pesquisa em capa leucocitária obtido após centrifugação em tubos de microhematócrito. Na pesquisa em capa leucocitária foram detectados 19 animais parasitados. No exame parasitológico direto de gota de sangue montado entre lâmina e lamínula foram detectados 18 animais parasitados. Pela técnica de Woo, detectou-se 26 animais parasitados. Por último, na extensão sanguínea corada observou-se 12 animais positivos. Os autores concluíram então que a melhor técnica para diagnóstico a campo de tripanossomose bovina foi a Técnica de Woo.

Os métodos sorológicos são considerados mais sensíveis que os parasitológicos e geralmente são indicados quando há suspeita de infecção subclínica no rebanho. Estes métodos visam detectar anticorpos anti - *T. vivax* no soro do animal suspeito. Indicam um contato prévio com o parasito, mas não dão a certeza se ainda existe a infecção ou se o animal respondeu ao tratamento. Os principais métodos sorológicos empregados no diagnóstico da tripanossomiase bovina são: reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) que apresentam sensibilidade variável e em algumas vezes não apresentam especificidade suficiente para diferenciar as espécies de tripanossomas (Silva et al., 2002; Desquesnes, 2004).

O teste de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) baseia-se na inoculação de *T. vivax* em um animal para a obtenção do antígeno. No pico de parasitemia, o sangue é coletado para confecção de esfregaços sanguíneos. O plasma ou o soro do animal suspeito é colocado sobre o esfregaço, e em seguida, um anticorpo anti-IgG bovino marcado por

fluoresceína é adicionado. Em casos positivos, observa-se a fluorescência sob luz ultravioleta (Desquesnes, 2004).

O princípio do teste ELISA 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 de um anti-IgG bovino ligado a uma enzima peroxidase. Na sequência, é adicionado um complexo formado pelo substrato da enzima, o peróxido de hidrogênio e um cromógeno, gerando então uma reação colorida quando o peróxido de hidrogênio é desdobrado e a leitura é feita visualmente (Desquesnes, 2004).

Em comparação com a RIFI, o teste ELISA possui resultados melhores devido a seu potencial de repetibilidade, baixo custo e facilidade para o processamento de muitas amostras, sendo indicada para pesquisas epidemiológicas (Madruga et al., 2004).

Germano et al. (2017), realizaram um comparativo entre três técnicas de diagnóstico parasitológico (Gota espessa, Woo e *Buffy Coat*) e uma técnica sorológica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Cerca de 30% das amostras analisadas apresentaram resultados positivos na técnica de Woo, porém nas outras técnicas parasitológicas não se encontrou positividade, sendo isso atribuído à baixa parasitemia dos animais infectados. Os autores afirmaram que o teste de Woo é o mais indicado a campo, principalmente quando a parasitemia da amostra é baixa, pois o método apresenta maior sensibilidade em relação as outras técnicas parasitológicas. Contudo, os autores também afirmaram que a desvantagem dessa técnica é que as amostras devem ser avaliadas rapidamente após a colheita do sangue, entre duas a quatro horas, caso contrário, o número de tripomastigotas reduzem, fazendo com que o teste perca sua sensibilidade podendo gerar um falso negativo. Já na técnica sorológica RIFI, 24% dos animais apresentaram-se positivos, ou seja, possuíam anticorpos anti-*T. vivax*. Nesse sentido verifica-se que o método sorológico pode ser importante na complementação dos exames parasitológicos pois podem comprovar se os animais negativos nos exames parasitológicos eram realmente negativos. Os autores concluíram que a técnica de Woo é a mais indicada para diagnóstico da doença em fase aguda e que a técnica da RIFI é mais sensível para detecção de tripanossomiase em fase crônica. Assim, nenhum dos métodos deve ser empregado de forma isolada.

Técnicas moleculares de diagnóstico, como a PCR (Reação em cadeia de polimerase), geralmente são consideradas muito específicas e sensíveis, especialmente para diagnóstico em animais com parasitemia reduzida. Em contrapartida, o teste requer uma equipe especializada e com alto grau de treinamento.

Desde os anos 80, técnicas baseadas na identificação do DNA de tripanossomas têm contribuído com o diagnóstico parasitológico trazendo um considerável ganho na identificação, caracterização e diagnóstico de tripanossomas, permitindo a definição de novos táxons, espécies ou subespécies (Desquesnes & Dávila, 2002).

A PCR é baseada na amplificação de milhões de cópias de uma região específica do genoma de qualquer organismo, utilizando-se uma enzima DNA-polimerase, oligonucleotídeos livres e sequências de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) em um tampão contendo substâncias que favorecem a reação (Desquesnes & Dávila, 2002).

Em seus estudos pioneiros para diagnóstico da tripanossomíase bovina, Desquesnes, (1997) comparou a técnica de PCR com as técnicas de Woo, *buffy coat*, ELISA e verificou que as técnicas parasitológicas e de PCR produziram aproximadamente as mesmas sensibilidades sendo que a PCR foi capaz de detectar infecção ativa em amostras de soro quando a parasitemia era superior a 103 tripanossomas/mL. O autor concluiu que o teste ELISA não foi considerado suficientemente sensível para ser usado como ferramenta de diagnóstico nesse estudo e que a sensibilidade da técnica de PCR pode não ser maior que as técnicas parasitológicas, porém permite o processamento tardio das amostras e fornece um diagnóstico altamente específico de espécies.

De maneira geral, alguns autores como Batista et al. (2008), Da Silva et al. (2009) e Cadioli et al. (2012) utilizaram métodos parasitológicos em conjunto com a técnica de PCR para confirmarem o diagnóstico de *T. vivax* em seus estudos, mostrando que um teste diagnóstico de tripanossomíase bovina combinado com teste PCR pode apresentar maior especificidade permitindo detectar pequenas quantidades do parasita nas amostras, conforme concluiu também Silva et al. (2002).

Tratamento

Na literatura, alguns medicamentos considerados antigos, ainda são indicados como eficazes contra a *T. vivax* tais como: acetato de diminazeno, brometo de etidium e cloreto de isometamidium. Porém apenas o acetato de diminazeno é registrado para uso animal no Brasil, sendo, portanto, o fármaco de eleição para o tratamento da tripanossomíase bovina no país, sendo que para o controle efetivo da doença além do tratamento de animais infectados, o controle de vetores também é fundamental (Cruz et al., 2015).

O Acetato de diminazeno é derivado da diamina, fórmula molecular: C₂₂H₂₉N₉O₆, peso molecular de 515,54 g/mol, descoberta em 1944. Possui ação antiprotozoária, além de possuir uma ação bactericida, principalmente contra *Brucella* sp. e *Streptococcus* sp. (Miller et al, 2005).

O fármaco diminazeno possui metabolização hepática e excreção renal, sem

causar efeitos parassimpatomiméticos. Contudo, alguns indivíduos podem apresentar reações adversas como, tremor muscular, salivação, diarreia, pulso acelerado e em superdosagem pode ocorrer sinais de intoxicação como convulsão. Para ruminantes as dosagens preconizadas são de 3,5 a 7,0 mg/kg em dose única e 3,5 mg/kg a cada 15 dias com intervalo de 4 a 8 semanas, por via intramuscular profunda (Miller et al, 2005).

Paiva et al. (2000)^c realizaram um teste de eficiência terapêutica entre duas formulações comerciais a base de acetato de diminazeno (BeronalTM e GanasegTM) empregando como referencial a redução da parasitemia. As formulações testadas foram eficientes na eliminação dos parasitas no sangue nos primeiros dias pós-tratamento e os autores afirmaram que a recuperação do volume globular nos animais tratados é um bom indicador da eficácia do tratamento.

Em um relato de caso de tripanossomíase bovina, Murakami et al. (2016) apontaram que o tratamento baseado na administração de diacetato de diminazeno (3,5 mg/kg) por dois dias consecutivos proporcionou melhora clínica do animal, entretanto, alegaram que este medicamento sozinho não é suficiente para cura da doença, considerando que, as drogas indicadas para tal tratamento não são autorizadas no país..

Com o objetivo de verificar a inocuidade de aplicação e segurança clínica do diminazeno em bovinos, Cruz et al. (2015) realizaram um experimento com 10 bovinos onde foi utilizado o diacetato de diminazeno na apresentação de solução injetável, formulação na concentração 7%, administrado em dose única por via intramuscular profunda no terço médio do pescoço na dose de 7,0 mg/kg. Não foram observadas dor, abscessos nem nódulos decorrentes da aplicação e também não foram observados sinais de intoxicação sistêmica nos bovinos ao longo do experimento.

Tendo em vista que a transmissão da tripanossomíase também pode se dar por más práticas de manejo e falhas nos sistemas de biossegurança utilizados nas propriedades, Madrid (2017) testaram a eficácia de desinfetantes em amostras contendo sangue com *T. vivax* onde verificaram que diversos desinfetantes se apresentam eficazes na eliminação do parasita, sendo os mais eficientes o álcool 40%, álcool 70%, iodo 0,5% e hipoclorito de sódio 500 ppm.

No Brasil, ainda não existe a comercialização de vacina efetiva contra a doença, portanto o controle da doença deve incluir outras medidas além do tratamento dos animais infectados, sendo importante o uso de medidas de manejo como: o controle de possíveis vetores, manejo de animais incluindo evitar rebanhos com alta densidade, nutrição adequada, evitar o uso compartilhado de agulhas e o controle dos animais que se movem de áreas endêmicas para áreas não endêmicas da doença (Osório et al., 2008).

Considerações finais

A tripanossomíase em bovinos é uma doença que está distribuída por todo o território nacional. É uma doença oportunista que acomete animais imunodeprimidos, principalmente vacas lactantes, no terço final da gestação, além de animais em condições de estresse e aqueles que não tiveram contato prévio com o agente *T. vivax*. A escolha dos métodos de diagnóstico laboratorial deve ser feita embasada nas técnicas disponíveis na região. A técnica parasitológica mais sensível é a de Woo, enquanto a sorológica que apresenta maior sensibilidade, repetibilidade e praticidade é o ELISA. Portanto, a manutenção dos animais em boas condições nutricionais e sanitárias podem minimizar a ocorrência da doença. Por apresentar sintomatologia inespecífica o diagnóstico diferencial é essencial para o sucesso no tratamento da doença.

Referências

ABRÃO, D.C., DE CARVALHO, A.U., FILHO, E.J.F., SATURNINO, H.M., RIBEIRO, M.F.B. Impacto econômico causado por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no Estado de Minas Gerais. Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria. 2009.

BARBOSA, J.C., BASTOS, T.S.A., RODRIGUES, R.A., MADRID, D. M. C., FARIA, A.M., BESSA, L.C., LINHARES, G.F.C. Primeiro surto de tripanossomose bovina detectado no estado de Goiás, Brasil. ARS Veterinaria, Jaboticabal 31(2): 100, 2015.

BARROS, A.C.E. Soroepidemiologia da babesia bovis, babesia bigemina, anaplasma marginale e diagnóstico molecular do *Trypanosoma vivax* em gado leiteiro da regional de Pedreiras – MA. 112f. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luiz, Brasil, 2009.

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

BASTOS T., MADRID D., FARIA A., BESSA L., SOUZA A., LINHARES G. Detecção de *Trypanosoma vivax* por diferentes técnicas de diagnóstico parasitológico realizadas à campo. Ars Veterinaria 31(2):40. 2015.

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

BATISTA, J.S., RIET-CORREA, F., BARBOSA, R.C., GUERRA, J.L. Infecção experimental por

Trypanosoma vivax em ovinos. Pesquisa Veterinária Brasileira 26(1): 31-37, 2006.

BEZERRA F.S.B., GARCÍA H.A., ALVES H.M., OLIVEIRA I.R.S., SILVA A.E., TEIXEIRA M.M.G. *Trypanosoma vivax* nos tecidos testicular e epididimário de ovinos experimentalmente infectados. Pesquisa Veterinária Brasileira 28(12): 575-582. 2008.

BOULHOSA J. Informação Científica, Boletim Técnico Ministério da Agricultura. p. 21-26, 1946.

CADIOLI, F.A., BARNABÉ, P.A., MACHADO, R.Z., TEIXEIRA, M.C.A., ANDRÉ, M.R., SAMPAIO, P.H., FIDELIS JUNIOR, O.L. TEIXEIRA, M.M.G., MARQUES, L.C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 21(2): 118-124, 2012.

CARVALHO, A.U., ABRÃO, D.C., FACURY FILHO, E.J., PAES, P.R.O., RIBEIRO, M.F.B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 60(3): 769-771, 2008.

CHAMOND, N., COSSON, A., BLOM-POTAR, M.C., JOUVION, G., D'ARCHIVIO, S., MEDINA, M., DROIN-BERGÈRE, S., HUERRE, M., GOYARD, S., MINOPRIO, P. *Trypanosoma vivax* Infections: Pushing Ahead with Mouse Models for the Study of *Nagana*. I. Parasitological, Hematological and Pathological Parameters. PLoS Neglected Tropical Diseases 4(8): 792, 2010.

CRUZ, N.R.N., PEREIRA, W.A.B., BITTAR, E.R., BITTAR, J.F.F. Inocuidade e segurança clínica do diacetato de diminazeno através de parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos em bovinos. Investigação Medicina Veterinária 14(6):78-83, 2015.

DA SILVA, A.S., COSTA, M.M., POLENZ, M.F., POLENZ, C.H., TEIXEIRA, M.M.G., LOPES, S.T.A., MONTEIRO, S.G. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Rural 39(8): 2550-2554, 2009.

DA SILVA, A.S., OLIVEIRA, C.B., ZANETTE, R.A., SOARES, C.D.M., CORADINI, G.P., POLENZ, C.H., SANTURIO, J.M., MONTEIRO, S.G. Ocorrência de *Trypanosoma evansi* em bovinos de uma propriedade leiteira no município de Videira SC. Acta Scientiae Veterinariae 35(3): 373-376, 2007.

DÁVILA, A.M.R., HERRERA, H.M., SCHLEBINGER, T., SOUZA, S.S., TRAUB-CSEKO, Y.M. Using PCR for unravelling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomiasis in the Pantanal, Brazil. Veterinary Parasitology 117: 1-13, 2003.

DÁVILA, A.M.R., SILVA, R.A.M. S. Animal trypanosomiasis in South America. current status, partnership, and information technology. Annals of The New York Academy of Sciences 916: 199-212, 2000.

- DELAFOSSE, A., THE´BAUD, E., DESQUESNES, M., MICHAUX, Y. Epidemiology of *Trypanosoma vivax* infection in cattle in the tse-tse free area of Lake Chad. *Preventive Veterinary Medicine* 74: 108–119, 2006.
- 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 Tropical* 65(3): 139-148, 1997.
- DESQUESNES, M., DÁVILA, A.M.R. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. *Veterinary Parasitology* 109(3-4): 213-231, 2002.
- DESQUESNES, M., DIA, M.L. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by African tabanid *Atylotus fuscipes*. *Veterinary Parasitology* 119: 9-19, 2004.
- GERMANO, P.H.V.; DA SILVA, A.; EDLER, G.E.C.; LOPES, L.O. Diagnóstico da tripanossomiase bovina por diferentes técnicas laboratoriais. *Revista Acadêmica Ciência Animal* 15: 607-608, 2017.
- GONZATTI, M.I., GONZÁLEZ-BARADAT, B.; ASO, P.M. REYNA-BELLO, A. *Trypanosoma (Duttonella) vivax* and trypanosomiasis in Latina America: Secadera/Huequera/Cacho Hueco. In: MAGEZ, S.; RADWANSKA, M. (1) *Trypanosomes and Trypanosomiasis*. Springer-Verlag Wien, London, UK. p. 261-185, 2014.
- GUERRA R.M.S.N.C., FEITOSA JÚNIOR A.B., SANTOS H.P., ABREU SILVA A.L., SANTOS A.C.G. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. *Ciência Rural* 38(3): 833-835. 2008.
- GUERRA, N.R, MONTEIRO, M.F.M, SANDES, H.M.M, CRUZ, N.L.N, RAMOS, C.A.N, SANTANA, V.L.A, SOUZA, M.M.A, ALVES L.C. Detection of IgG antibodies against *Trypanosoma vivax* in cattle by indirect immunofluorescence test. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33(12):1423–1426. 2013.
- HOARE, C.A. *The Trypanosomes of Mammals. A zoological monograph*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K. 749p, 1972
- KADIMA, K.B., GYANG, E.O., SAROR, D.I., ESIEVO K.A.N. Serum biochemical values of *Trypanosoma vivax* infected cattle and effects of lactose in saline infusion. *Veterinarski Archiv* 70(2):67–74. 2000.
- LINHARES G.F.C., FILHO F.C.D., FERNANDES P.R., DUARTE S.C. Tripanossomiase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins: relato de caso. *Ciência Animal Brasileira*, 7(4):455-460, 2006.
- MADRID, D. M. C. Avaliação da ultraestrutura e ação de desinfetantes em *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905). 37 f. (Dissertação de mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil, 2017.
- MADRUGA, C.R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanosoma (Duttonella) vivax* no Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 13: 46-47, 2004.
- MACLENNAN, K.J.R. A staining technique for the identification of trypanosomes in thick blood films. *Transactions of the Royal Society Tropical Medicine Hygiene* 51(4): 301-302, 1957.
- MILLER DM., SWAN GE., LOBETTI RG., JACOBSON, LS. The Pharmacokinetics of Diminazene Aceturate after Intramuscular Administration in Healthy Dogs. *Journal of the South African Veterinary Association* 76(3): 146-150. 2005.
- MURAKAMI, V.Y., ALVES, R.M., NASCIMENTO, M.R., BARROS, J.C., CARVALHO, L.L., DA COSTA, M.J., OLIVEIRA, E.D.S., BORGES, D.G., ALVES, A.G., DIAS, F.G.G., PEREIRA, L.F. *Trypanosoma vivax*: Relato em bovino. ANAIS - VIII Congresso da Sociedade Paulista de Parasitologia 15(6): 2016.
- MURRAY, M., MURRAY, P.K., MCINTYRE, W.I. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Transactions of the Royal Society Tropical Medicine Hygiene* 71(4): 325-326, 1977.
- NGERANWA, J., GATHUMBI, P.K., MUTIGA, E.R., AGUMBAH, G.J. Pathogenesis of *Trypanosoma (brucei) evansi* in small east African goats. *Research in Veterinary Science* 54: 283-289, 1993.
- OSÓRIO, A.L.A.R., MADRUGA, C.R., DESQUESNES, M. SOARES, C.O., RIBEIRO, L.R.R., COSTA, S.C.G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 103(1):1-13. 2008.
- OTTE, M.J., ABUABARA, J.Y. Transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. *ActaTropical* 49(1):73-76, 1991.
- PAIVA, F., LEMOS, R. A.A. NAKAZATO, L. MORI, A. E. BRUM, K. B. BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I – Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 9(2): 135-141, 2000^º.
- PAIVA, F., LEMOS, R.A.A., NAKAZATO, L., MERNARDOS, K.C., MADRUGA K.C., SCHENK, M.A. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: ii – inoculação experimental. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 9(2): 143-148 2000^º.
- PAIVA, F., NAKAZATO, L., BERNARDO, K.C., BRUM, K.B. *Trypanosoma vivax* em bovinos no

pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: III – Teste comparativo entre drogas comerciais. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 9(2): 149-151 2000^c.

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

SEKONI V.O., REKWOT P.I., BAWA E.K. Effects of *Trypanosoma vivax* and *Trypanosoma congolense* infections on the reaction time and semen characteristics of Zebu (Bunaji) x Friesian crossbred bulls. Theriogenology 61(1): 55-62, 2004.

SERRA-FREIRE, N.M. Oiapoque – outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. Revista Brasileira de Medicina Veterinária 4: 30-31, 1981.

SILVA, R.A.M.S., PELLEGRIN, A.O., RAMIREZ, E.S.S.L.L., DÁVILA, A.M.R. Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-Grossense e Bolívia. Documentos 75, Embrapa Pantana, 1: 30, 2004.

SILVA, R.A.M.S., SANCHEZ, V., DÁVILA, A.M.R. Métodos de Diagnósticos Parasitológicos das Tripanossomoses Bovinas e Eqüinas. Circular Técnica 41, Embrapa Pantanal, 1: 3, 2003.

SILVA, R.A.M.S., SEIDL, A., RAMIREZ, L., DÁVILA, A.M.R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: Biologia, diagnóstico e controle. EMBRAPA Pantanal 21: 137, 2002.

SILVA, R.A.M., EQUEZ, A., MORALES, G., EULERT, ERICK., MONTENEGRO, A., YBAÑEZ, R., SEIDL, A., DÁVILA, A.M.R., RAMIREZ, L. Bovine Trypanosomiasis in Bolivian and Brazilian Lowlands. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 93(1): 29-32, 1998.

SILVA, R.A.M., SILVA, J.A., SCHNEIDER, R.C, FREITAS, J., MESQUITA, T., RAMIRES, L., DÁVILA, A.M.R., PEREIRA, M.E.B. Surto de tripanossomiase por *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) em bovinos do Pantanal, Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 91(2): 13-141, 996.

SHAW, J.J., LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, London 66(1): 25-32. 1972.

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African Trypanosomiasis. Acta Tropical 27(4): 384-386, 1970.