

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA
VETERINÁRIA

**TRIPANOSOMÍASE BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS NO
ESTADO DE MATO GROSSO**

Gabriel Ferreira Mendes Cardoso

Cuiabá - MT

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA
VETERINÁRIA

**TRIPANOSOMÍASE BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS NO
ESTADO DE MATO GROSSO**

Autor: Gabriel Ferreira Mendes Cardoso
Tutor: Professor Doutor Edson Moleta Colodel

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de pós-graduação intitulado Programa de Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária, área de concentração: Patologia Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Mato Grosso para a obtenção do título de Especialista em Patologia Animal

Cuiabá – MT

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

C268t Cardoso, Gabriel Ferreira Mendes.
Tripanosomíase bovina em rebanhos leiteiros no Estado
de Mato Grosso. / Gabriel Ferreira Mendes Cardoso. -- 2017
16 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Edson Moleta Colodel.
TCC (especialização em Medicina Veterinária) -
Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária, Residência
Uniprofissional em Medicina Veterinária, Cuiabá, 2017.
Inclui bibliografia.

1. Salmonelose. 2. Vetor mecanico. 3. Hemoparasita. I.
Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

RESUMO

TRIPANOSSOMÍASE BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS NO ESTADO DE MATO GROSSO

Neste trabalho observou-se a ocorrência, os achados clínicos e laboratoriais de surtos de tripanossomíase causados por *T. vivax* em três propriedades leiteiras, no Estado de Mato Grosso, Brasil. Além disso, avaliou-se a possibilidade da transmissão iatrogênica desse protozoário, através da reutilização de agulhas e seringas. Foram testadas, por meio de esfregaço sanguíneo e da reação em cadeia pela polimerase (PCR), amostras de sangue de 213 vacas, provenientes dessas propriedades. Os resultados foram arranjados em tabela de contingência 2x2, e comparados pelo teste Chi-quadrado, utilizando-se o nível de significância 0,05. Um animal em cada propriedade foi necropsiado, e fragmentos de órgãos foram coletados para realização de exame histológico e microbiológico. Entre os animais que apresentaram a doença observou-se manifestações neurológicas, além de infecção secundária por *Salmonella enterica enterica* sorovar O:4,5. Não se observou associação estatística da infecção dos animais com a reutilização de agulhas e seringas.

Palavras-chave: hemoparasita, vetor mecânico, salmonelose.

ABSTRACT

BOVINE TRIPANOSOMIASIS IN DAIRY CATTLE IN MATO GROSSO STATE

In this work, we observed the occurrence, clinical and laboratory findings of outbreaks of trypanosomiasis caused by *T. vivax* in three dairy farms, Mato Grosso State, Brazil. In addition, the possibility of iatrogenic transmission of this protozoan, through the reuse of needles and syringes was evaluated. Blood samples from 213 cows from these properties were tested by blood smear and polymerase chain reaction (PCR). The results were arranged in a 2x2 contingency table, and compared by the Chi-square test, using a significance level of 0.05. One animal on each property was necropsied, and organ fragments were collected for histological and microbiological examination. Among the animals that presented the disease, neurological manifestations were observed, as well as secondary infection by *Salmonella enterica enterica* sorovar O: 4,5. There was no statistical association of infection with the reuse of needles and syringes.

Key words: hemoparasite, mechanical vector, salmonellosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 MATERIAIS E MÉTODOS	9
3 RESULTADOS.....	11
4 DISCUSSÃO	16
5 CONCLUSÃO	18
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

1 INTRODUÇÃO

Tripanossomíases são doenças causadas por espécies de protozoário do gênero *Trypanosoma*, sendo *T. vivax* a principal espécie que acomete os bovinos na América Latina (Jones e Davila, 2001), causando quadros de anemia, debilidade, queda na produção de leite, anorexia e morte dos animais, além de estar associado a problemas reprodutivos, como aborto e queda na fertilidade (Riet-Correa, 2007; Dagnachew e Bezie, 2015). Seidl et al. (1999), considera que a mortalidade, a ocorrência de abortos, gastos com tratamento e redução da produtividade, levam a uma perda de 4% no valor dos bovinos quando houver o tratamento da doença e, perda 17% quando não há tratamento dos animais.

A transmissão do *T. vivax* nas Américas ocorre de forma horizontal, mecanicamente, por meio de vetores invertebrados como mutucas (*Tabanus* sp.), mosca-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans*), mosca-do-chifre (*Haematobia irritans*), além da possibilidade da transmissão iatrogênica, com o uso de agulhas e seringas contaminadas na administração de medicamentos, vacinas entre os animais (Desquesnes, 2004).

No Brasil, a região Norte e a região do pantanal no Centro-Oeste são áreas endêmicas para a ocorrência do *T. vivax*, devido as condições favoráveis de desenvolvimento dos insetos vetores. Na região Norte, a transmissão desse protozoário é facilitada devido a umidade relativa e precipitação pluvial alta, as quais favorecem a alta densidade das populações de insetos hematófagos (Pereira e Abreu, 1978). No Centro-Oeste, especialmente no bioma pantanal, durante a estação chuvosa, além do aumento da população de insetos hematófagos, ocorre formação de áreas alagadiças e aglomeração de animais que são adensados em áreas secas (Davila et al., 1997).

O diagnóstico pode ser estabelecido por meio da associação entre anamnese, exame parasitológico, molecular e sorológico. Os exames parasitológicos, de modo geral, possuem sensibilidade dependente da fase da infecção da doença, apresentando menor sensibilidade em casos crônicos. Exames sorológicos indiretos, como o ELISA (Ensaio imunoenzimático) são importantes para estudos epidemiológicos, enquanto testes moleculares como a PCR (reação em cadeia polimerase) que tem maior sensibilidade,

possibilitam a identificação da espécie causadora da doença (Dagnachew e Bezie, 2015).

O objetivo deste trabalho é descrever a ocorrência, achados clínicos e laboratoriais de surtos de tripanossomíase bovina em três propriedades leiteiras no Estado de Mato Grosso, além de avaliar o envolvimento da reutilização de agulhas e seringas na transmissão do protozoário.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram acompanhados surtos de tripanossomíase bovina em três propriedades de produção de leite no Estado de Mato Grosso, Brasil, nos municípios de São José dos Quatro Marcos (Propriedade 1), Araputanga (Propriedade 2) e Glória do Oeste (Propriedade 3), entre julho e dezembro de 2015. A Propriedade 1 foi visitada em 10 de agosto de 2015, já as Propriedades 2 e 3 foram visitadas em 03 de dezembro de 2015. Durante as visitas foi realizada coleta de sangue, por punção da veia caudal lateral, a partir de amostragem da população de bovinos, em tubos vacutainer contendo anticoagulante EDTA. No total, 213 amostras de sangue foram obtidas, sendo 83 da Propriedade 1, 122 da Propriedade 2 e 8 da Propriedade 3. As amostras foram submetidas a pesquisa de *Trypanosoma* sp. por meio de esfregaço sanguíneo e, posteriormente, foram submetidas extração de DNA e PCR.

Os esfregaços sanguíneos foram realizados, imediatamente, após a coleta, fixados em metanol e, posteriormente, corados pelo Panótico Rápido®, para pesquisa de *Trypanosoma* sp. a identificação morfológica do protozoário. Parte do sangue foi submetido à extração de DNA pela técnica de fenol-clorofórmio (Sambrook e Russell, 2001). As amostras de DNA foram então submetidas à PCR, usando um par de oligonucleotídeos, TviCatL1 e DTO155, para amplificação de um fragmento de 177 pares de base (pb) de DNA genômico, específico de *T. vivax*, conforme descrito por Cortez et al. (2009). O produto final da PCR foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 1,5% e as amostras positivas visualizadas no transiluminador Bio-Rad ChemiDoc™ XRS.

A variável, reutilização de agulhas e seringas, considerada como fator de risco, vinculada à aplicação de ocitocina, foi comparada à positividade das vacas para *T. vivax*, por meio do software SAS University Edition. Os dados foram arranjados em tabela de contingência 2 x 2, e comparados pelo teste Chi-quadrado, utilizando o nível de significância 0,05.

Durante as visitas, três vacas (Vaca 1, 2 e 3) foram submetidas à necropsia sendo uma de cada propriedade. Durante a necropsia foram avaliadas alterações

macroscópicas e coletados encéfalo e medula espinhal, fragmentos de coração, pulmão, fígado, baço, rim, bexiga, musculatura esquelética, rúmen, retículo, omaso, abomaso, intestino delgado e intestino grosso. Os órgãos foram fixados em formol 10% e processados rotineiramente, para posterior avaliação histológica. Amostras de sangue dessas três vacas também foram submetidas a extração de DNA e PCR, conforme descrito acima. Além disso, fragmentos de fígado de cada animal foram mantidos refrigerados e encaminhados para análise microbiológica no Laboratório de Microbiologia Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso (HOVET/UFMT). Para essa análise esses fragmentos foram processados de acordo com Quinn et al. (2004). Posteriormente, os fragmentos de fígado foram submetidos a PCR para *Salmonella* sp. segundo Suh e Song (2005).

A colônia bacteriana isolada foi submetida ao exame antigênico, por meio da técnica de soroaglutinação rápida em lâmina, com antissoros polivalente e monovalente, somáticos (O) e flagelares (H), com base no esquema sorológico de Kauffmann-White e Le Minor e representada de acordo com os critérios de Grimont e Weill (2007) e Guibourdenche et al. (2010).

3 RESULTADOS

Nas propriedades visitadas, os rebanhos bovinos eram compostos predominantemente por vacas mestiças, holandesas e girolandas, com 3 a 5 anos de idade, e bezerros e novilhas com até 12 meses de idade. Os bovinos eram criados em sistema de semi-confinamento, com pasto predominante de *Panicum maximum* cv. Mombaça (Propriedade 1) e *Brachiaria brizantha* (Propriedades 2 e 3). A principal queixa foi a diminuição de produtividade, emagrecimento, apatia, letargia e mortalidade, principalmente nas vacas. Nas três propriedades, foram administrados diaceturato de diminazene, oxitetraciclina, solução de cálcio injetável, solução polivitamínica contendo cianocobalamina e ferro nos animais, mas sem resposta clínica satisfatória. No entanto, em 17 vacas da propriedade 2 foi administrado cloridrato de isometamidium, sendo que se observou melhora significativa desses bovinos. Nas três propriedades aplicava-se, previamente a ordenha, ocitocina, por via endovenosa compartilhando-se agulhas e seringas, realizando trocas desses materiais apenas se apresentasse defeito mecânico.

Na Propriedade 1, do total de 160 bovinos (158 vacas e 2 touros), 28,1% (45/160) das vacas adoeceram, e 6,8% (11/160) das vacas morreram (Tab.1), com evolução clínica de ~ 24 horas entre o início dos sinais clínicos até a morte dos animais. Ocorreram também quatro abortos. Segundo proprietário, os animais eram oriundos dos municípios do Estado de Goiás e Minas Gerais.

Na Propriedade 2, onde havia 260 bovinos (170 vacas e 90 bezerros), 18% (47/260) dos bovinos adoeceram, e 4,2% (11/260) morreram (Tab.1), apresentando evolução de 48-72 horas. Nessa propriedade houve a introdução de animais, provenientes de Minas Gerais, 60 dias antes da visita.

Na Propriedade 3, do total de 140 bovinos, 70 eram vacas leiteiras em produção e 70 eram novilhas e bezerros. Do total de 70 vacas, 14,3% (20/140) adoeceram, com uma taxa de mortalidade de 9,2% (13/140) (Tab.1), com evolução de 72 horas até 120 horas. Aproximadamente 30 vacas foram transferidas da Propriedade 2 para essa propriedade, aproximadamente 30 dias anteriores à visita.

Tabela 1. Tripanosomíase bovina causada por *Trypanosoma vivax* em rebanhos leiteiros no Estado de Mato Grosso. Número total de bovinos, taxa de morbidade, taxa de mortalidade e ocorrências observadas na Propriedade 1, 2 e 3.

	total bovinos	morbidade	mortalidade	Prevalência
Propriedade 1	160	28,1%	6,8%	25,3%
Propriedade 2	260	18,0%	4,2%	27,8%
Propriedade 3	140	14,3%	9,2%	37,5%

Ao exame parasitológico direto, por meio de esfregaço sanguíneo, em 10,79% (23/213) dos animais observou-se positividade para a forma tripomastigota de *Trypanosoma vivax* (Davila et al., 1997). Todas as amostras positivas no esfregaço sanguíneo, também foram positivas quando submetidas a PCR específico para *Trypanosoma vivax*.

Considerando-se o exame molecular, nas três propriedades foram observadas 27,23% (58/213) amostras positivas para *T. vivax*, sendo 25,3% (21/83) da Propriedade 1, 27,8 % (34/122) da Propriedade 2 e 37,5% (3/8) da Propriedade 3 (Tab.1).

Considerando-se o exame parasitológico constatou-se 23 esfregaços sanguíneos positivos e 190 negativos. Dessas 190 amostras, em 35 ocorreu amplificação de fragmento de 177pb de DNA genômico de *T. vivax*, assim como nas 23 amostras positivas em esfregaço sanguíneo (Tab. 2).

Tabela 2. Tripanosomíase bovina causada por *Trypanosoma vivax* em rebanhos leiteiros no Estado de Mato Grosso. Tabela de contingência 2x2. Associação dos resultados ao exame parasitológico e ao exame molecular.

Esfregaço sanguíneo	PCR		TOTAL
	1	0	
1	23	0	23
0	35	155	190
TOTAL	58	155	213

PCR: 0: número de animais negativos. 1: número de animais positivos. Esfregaço sanguíneo: 0: número de animais negativos. 1: número de animais positivos. ($p < 0,01$).

Considerando-se o histórico de manejo durante a ordenha e o resultado do exame molecular, das 148 vacas que recebiam a aplicação de ocitocina, 104 (70,3%) foram negativas e 44 (29,7%) positivas. Ainda, das 48 vacas que não recebiam a aplicação de ocitocina, 12 (25,0%) foram negativas e 36 (75,0%) positivas (Tab. 3). Desse

modo não houve diferença estatística ($p=0,5285$) entre a variável positividade de vacas para *T. vivax* e a variável “aplicação de ocitocina”.

Tabela 3. Tripanosomíase bovina causada por *Trypanosoma vivax* em rebanhos leiteiros no Estado de Mato Grosso. Tabela de contingência 2x2. Associação dos resultados ao exame molecular e a exposição ao fator de risco: aplicação de ocitocina.

OCITOCINA	PCR		TOTAL
	0	1	
0	36	12	48
1	104	44	148
TOTAL	140	56	196

PCR: 0: número de vacas negativas. 1: número de vacas positivas. OCITOCINA: 0: número de vacas que não receberam a aplicação de ocitocina. 1: número de vacas que receberam a aplicação de ocitocina.

Dezessete vacas que foram previamente medicadas com cloridrato de isometamidium e que foram negativas ao exame parasitológico e molecular para *T. vivax*, não foram incluídas na avaliação estatística.

Na Propriedade 1, o proprietário relatou que a Vaca 01 apresentava debilidade intensa no dia anterior a morte. Na Propriedade 2, a Vaca 02, apresentava intensa depressão. O proprietário relatou que o quadro clínico dessa vaca se iniciou com apatia e cegueira, e evoluiu em 24-36 horas, morrendo durante exame clínico. Na Propriedade 3 a Vaca 3, apresentava intensa apatia e secreção nasal catarral com estrias de sangue, além de pelos arrepiados e tremores de mandíbula. O proprietário relatou que essa vaca apresentava apatia recorrente havia 90 dias e que apresentou andar em círculos, durante 5 dias, mas que logo cessaram.

As Vaca 1 e 3 estavam caquéticas, com atrofia muscular, evidenciação de tuberosidades ósseas e havia atrofia acentuada de gordura corporal, a Vaca 2 estava com bom escore corporal. Nas três vacas submetidas à necropsia, foram observadas hepatomegalia, acentuada na Vaca 1 e moderada na Vaca 2 e 3; além de petéquias e equimoses de serosas, principalmente no epicárdio; e edema pulmonar com espuma na luz traqueal. A Vaca 01 apresentava ainda fígado alaranjado, com petéquias na superfície capsular e de corte, além de áreas multifocais aleatórias, puntiformes (1 -2 mm), brancacentas, mais evidentes na superfície capsular. Foram observados também áreas de calcificação na aorta (Vaca 02) e hidropericárdio (Vaca 03). No exame histológico observou-se infiltrado perivascular mononuclear e gliose multifocal (Vaca 3)

sendo leve na Vaca 02 e moderado a acentuado na Vaca 03, mais evidente em corpo estriado, tálamo, mesencéfalo, medula oblonga e cerebelo. Em ambos os animais, observou-se, ainda, hepatite linfoplasmocítica periportal, leve a moderado e nefrite intersticial linfoplasmocítica moderada em região medular. Na Vaca 01 o fígado apresentou necrose coagulativa, multifocal e aleatória, caracterizada por núcleos picnóticos, restos e debris celulares, ocasionalmente contendo neutrófilos (nódulos paratífóides) (Fig.3); além da presença de trombos.

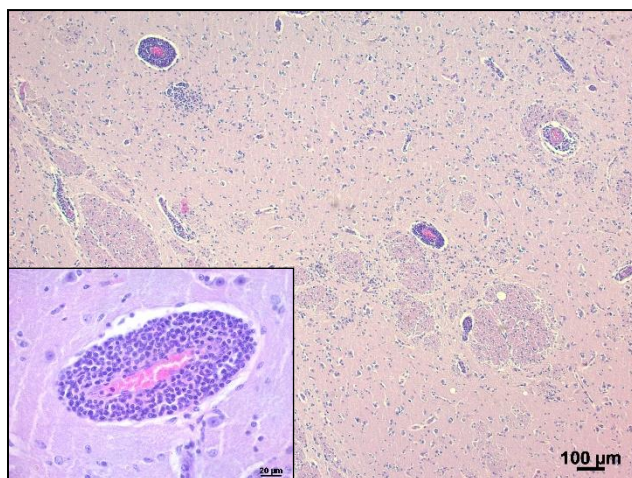


Figure 1. Vaca 3 – bovino, fêmea, mestiça, 36 meses de idade com diagnóstico de tripanossomíase. Encefalo com infiltrado perivascular mononuclear acentuado e difuso.

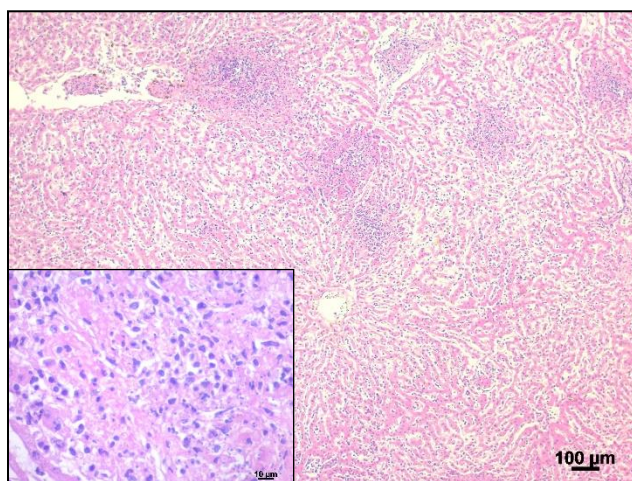


Figure 2. Vaca 1 – bovino com tripanossomíase e salmonelose. Nódulos paratífóides caracterizados por áreas de necrose hepatocelular aleatória com infiltrado predominantemente neutrofílico.

A partir de fragmento de fígado da Vaca 01, foi obtida em agar sangue, colônia cinza de cocobacilos gram negativos com comportamento bioquímico compatível com *Salmonella* sp., posteriormente, confirmada como *Salmonella* sp. através da PCR. No Instituto Oswaldo Cruz, a colônia bacteriana obtida foi diagnosticada como *Salmonella*

enterica enterica serovar O:4,5. As amostras de fígado da vaca 02 e 03 resultaram negativas em cultura microbiana.

4 DISCUSSÃO

O diagnóstico de tripanossomíase bovina por *T. vivax* nas três propriedades foi baseado na anamnese, sinais clínicos e, posterior confirmação laboratorial pelo exame parasitológico e molecular. O histórico de apatia, redução do escore corporal e da produção de leite são secundários a anemia que é observada em hemoparasitoses, como tripanossomíase, babesiose e anaplasmose, sendo que o exame parasitológico e o exame molecular permitiram a identificação do agente causador da doença nas três propriedades. A PCR possui maior sensibilidade que o exame parasitológico (Solano et al., 1999) e, além de confirmar a etiologia da doença, foi importante para verificar a presença do patógeno, principalmente nas vacas que foram submetidas ao fator de risco: “aplicação de ocitocina”.

A reutilização de agulhas e seringas pode estar associada a transmissão iatrogênica de *T. vivax* (Desquesnes, 2004), e nesse relato tornou-se um importante fator de risco uma vez que administra-se ocitocina por via endovenosa, diariamente. Em surtos de tripanossomíase por *T. vivax*, relatados nos municípios de Ipameri-GO (Barbosa et al., 2015) e Barra do Garças-MT (Bastos et al., 2013), a aplicação diária de ocitocina, também fazia parte do manejo para a ordenha. Meneses (2016), verificou diferença estatística ao correlacionar as variáveis “utilização de seringas e agulhas contaminadas” e a “ocorrência de tripanossomíase bovina”, em propriedades de produção de leite em Minas Gerais.

Contudo, no presente trabalho não foi observado diferença estatística entre as variáveis “aplicação de ocitocina” e a positividade das vacas ($p>0,005$). Esse resultado foi caracterizado por elevada proporção de vacas negativas para o patógeno diante da exposição ao fator de risco (70,2%), que pode ser devido ao uso do aceturato de diminazeno no tratamento dos animais, pois não houve registro das vacas que foram tratadas. Outra característica a ser considerada é a proporção de vacas positivas quando não houve a exposição ao fator de risco (25,00%), certamente devido a presença de vetores como mutucas (*Tabanus* sp.) e mosca-do-chifre (*Haematobia irritans*).

As alterações clínicas e achados patológicos, observados nas Vacas 02 e 03, caracterizam manifestação neurológica de tripanossomíase, semelhante aos casos relatados por Batista et al. (2007) e Galiza et al. (2011). Esses achados podem ser associados à presença de *Trypanosoma* no tecido nervoso e no fluido cerebroespinal (Losos e Ikede, 1972; Whitelaw et al., 1988; Tuntasuvan et al. 1997, 2000); às alterações circulatórias causadas por êmbolos formados por *Trypanosoma*, leucócitos e fibrina nos capilares e vênulas do cérebro (Losos e Ikede, 1972); à reação autoimune causada por anticorpos contra o tecido nervoso no fluido cerebroespinal (Dumas e Bouteille, 1996); e à apoptose de células endoteliais de vasos sanguíneos do cérebro e do cerebelo (Stiles et al., 2004). Galiza et al. (2011), sugerem ainda que sinais neurológicos transitórios podem ser causados por hipoxia cerebral devido a severa anemia.

Os achados patológicos, microbiológicos e moleculares da Vaca 01, estão associados a infecção por *Salmonella enterica enterica* serovar O:4,5. A hepato e esplenomegalia são achados encontrados em sepse bacteriana (Barros 2007, Blanchard 2012). De acordo com Cullen (2009) a necrose hepática multifocal aleatória associada a infiltrado de macrófagos (nódulo paratifoide), é sugestiva de sepse por *Salmonella* sp.. A imunossupressão é um fenômeno conhecido e esperado em casos de tripanossomíase e torna o hospedeiro susceptível a ocorrência de infecções secundárias (Dagnachew, 2015).

5 CONCLUSÃO

O diagnóstico dos surtos nas Propriedades 1, 2 e 3 foi estabelecido através dos achados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, como a ocorrência de tripanossomíase bovina por *Trypanosoma vivax*, com a ocorrência de manifestação neurológica na Propriedade 2 e 3, e a ocorrência de infecção secundária por *Salmonella enterica enterica* sorovar O:4,5 na Propriedade 1. No entanto, não houve associação estatística da positividade dos animais para o protozoário e a reutilização de agulhas e seringas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, C.S.L. Salmonelose. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. Doenças de Ruminantes e Equídeos. 3.ed., vol.1. Santa Maria:PALOTTI, 2007. p.416-425.
- BASTOS, T.S.A., LINHARES, G.F.C., FREITAS, T.M.S. et al. Outbreak of bovine trypanosomiasis unleashed after improper application of intravenous medicine. *Ars Vet*, vol.29, n.4, p.63, 2013.
- BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M. G. et al. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Vet. Parasitol.*, vol.143, p.174-181, 2007.
- BLANCHARD, P.C. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.*, vol.28, p.443-464, 2012.
- 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 Probe.*, vol.23, p.44-51, 2009.
- CULLEN, J. Fígado, Sistema biliar e pâncreas exócrino. In: MCGAVIN, M.D. e ZACHARY, J.F. Bases da patologia em veterinária. 4 ed. Rio de Janeiro:ELSEVIER, 2009. p.403.
- DAGNACHEW, S. e BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. *African J. of Basic & Appl. Scie.*, vol.7, n.1, p.41-64 2015.
- DAVILA, A.M.R.; HERRERA, H.M.; SCHLEBINGER, T. et al. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomosis in the Pantanal, Brazil. *Vet Parasitol.*, vol.117, p.1-13. 2003.

- DAVILA, A.M.R., SILVA, R.A.M.S., JANSEN, A.M. Dynamics of *Trypanosoma evansi* outbreaks in the Pantanal, Brazil. In: Proceedings of the First Internet Conference on Salivarian Trypanosomes. FAO Animal Production and Health. Paper 136. 1997.
- DESQUESNES, M. Livestock Trypanosomoses and Their Vectors in Latin America. CIRAD-EMVT Publication, OIE, Paris, p. 174. 2004.
- DUMAS, M.; BOUTEILLE, B. Human african trypanosomiasis. *C. R. Sean. Soc. Biol.*, vol.190, n.4, p.395-408. 1996.
- GALIZA, G.J.N.; GARCIA, H. A.; ASSIS, A. C. O.; OLIVEIRA, D. M. et al. mortality and lesions of the central nervous system in Trypanosomosis by *Trypanosoma vivax* Brazilian hair sheep. *Vet. Parasitol.*, vol.182, p.359-363. 2011.
- GIORDANI, F.; MORRISON, J.L.; ROWAN, T.G. et al. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. *Parasitol.*, vol.143, p.1862-1869. 2016.
- GONÇALVES, P.M. Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região sudeste do Brasil. *Cienc. Rural*, v. 30, n. 1, p.187-194, 2000.
- GRIMONT, P.A.D. e WEILL, F.X. Antigenic formulae of *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. 9.ed. France: INSTITUTE PASTEUR, 2007. p.167.
- GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M et al. Supplement 2003-2007 (No.47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res. Microbiol.*, v.161, p.26-29, 2010.
- JONES, T.W. e DAVILA, A.M. *Trypanosoma vivax* — out of África. *TRENDS in parasitology.*, vol.17, n.2, p.99-101. 2001.
- LOSOS, G.J. e IKEDE, B.O. Review of pathology of diseases in domestic and laboratory animals caused by *Trypanosoma congolense*, *T. vivax*, *T. rhodesiense*, and *T. gambiense*. *Vet. Pathol.*, vol.9, p.1-71. 1972.

- MENEZES, R. M. Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011: soroprevalência e fatores de risco. 2016. 61f. Belo Horizonte, 2016. Tese (Doutorado ciência animal). Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- PEREIRA, L.J. e ABREU, A.C.V.V. Ocorrência de tripanossomas em bovinos e ovinos na região amazônica. *Pesq. Agropec. Bras.*, vol.13, n.3, p.17-21, 1978.
- QUINN, P.J., CARTER, M.E. MARKEY B.K., CARTER G.R. Clinical Veterinary Microbiology. 6.ed. London:MOSBY INTERNATIONAL, 2004. p.648.
- RIET-CORREA, F. Tripanossomíase em bovinos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. Doenças de Ruminantes e Equídeos. 3.ed., vol.1. Santa Maria:PALOTTI, 2007. p. 699.
- SAMBROOK, J.; RUSSELL. D. W. Molecular cloning: a Laboratory manual. 3.ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. New York:CSHL, 2001.
- SEIDL, A.; DÁVILA, A.M.R.; SILVA, R.A.M.S. Estimated Financial Impact of Trypanosoma vivax on the Brazilian Pantanal and Bolivian Lowlands. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol.94, n.2, p.269-272, 1999.
- SOLANO, P.; MICHEL, J.F.; LEFANÇOIS, T. et al. Polimerase chain reaction as a diagnosis tool for detecting trypanosomes in naturally infected cattle in Burkina Faso. *Vet. Parasitol.*, vol 86, n.2, p.95-103, 1999.
- STILES, J.K., WHITTAKER, J.; SARFO,Y.B. et al. Trypanosome apoptotic factor mediates apoptosis in human brain vascular endothelial cells. *Mol. Biochem. Parasitol.*, vol.133, p.229-240. 2004.
- SUH, D.K. e SONG, J.C. Simutaneous detection of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and *Salmonella spp.* in swine intestinal specimens by multiplex polymerase chain rection. *J. Vet. Sci.*, vol.6, p.231-237, 2005.

- TUNTASUVAN, D.; MIMAPAN, S.; SARATAPHAN, N. et al. Detection of *Trypanosoma evansi* in brains of the naturally infected hog deer by streptavidin-biotin immunohistochemistry. *Vet. Parasitol.*, vol.87, p.223-230. 2000.
- WHITELOW, D.D., GARDINER, P.R.; MURRAY, M. Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. *Parasitol.*, vol.97, p.51-61. 1988.