

Avaliação da distribuição da tripanossomíase bovina, em propriedades rurais de Patos de Minas (MG), pelos métodos de diagnóstico: esfregaço sanguíneo, RIFI e PCR

Evaluation of the distribution of bovine trypanosomiasis, in rural properties in Patos de Minas (MG), using diagnostic methods: blood swimming, RIFI, and PCR,

LUAN SILVEIRA ROSA

Discente de Medicina Veterinária (UNIPAM)

E-mail: luansilveirar@unipam.edu.br

LUIZ FLÁVIO NEPOMUCENO DO NASCIMENTO

Professor Orientador (UNIPAM)

E-mail: luiznepomuceno@unipam.edu.br

Resumo: Tripanossomíase bovina é uma enfermidade que tem grande importância econômica por levar o indivíduo a uma baixa produtividade e por ocasionar mortalidade nos casos mais graves. Como é uma doença de difícil diagnóstico clínico, torna-se necessária a utilização de exames laboratoriais. O presente trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência da tripanossomíase bovina por meio de diferentes técnicas de diagnóstico e avaliar o perfil da doença na região de Patos de Minas (MG) utilizando técnicas de Buffy coat, Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Reação em Cadeia Polimerase (PCR). Foram analisadas 55 amostras de sangue de bovinos coletados. A técnica de Buffy coat foi desenvolvida no Centro Universitário de Patos de Minas, no Laboratório de Parasitologia. Já a RIFI e PCR, por serem testes de metodologias mais complexas, foram feitos em laboratórios especializados. As análises apresentaram resposta negativa para presença de *Trypanosoma vivax* em todas as amostras e testes diagnósticos realizados neste trabalho.

Palavras-chave: bovinocultura; imunodiagnóstico; *Trypanosoma vivax*.

Abstract: Bovine trypanosomiasis is a disease of significant economic importance due to its impact on productivity and mortality in severe cases. Given its challenging clinical diagnosis, laboratory tests are necessary. This study aimed to investigate the occurrence of bovine trypanosomiasis using different diagnostic techniques and assess the disease profile in the region of Patos de Minas (MG) using Buffy coat, Indirect Immunofluorescence Assay (RIFI), and Polymerase Chain Reaction (PCR) techniques. Fifty-five blood samples from cattle were analyzed. The Buffy coat technique was developed at the University Center of Patos de Minas, in the Parasitology Laboratory. The RIFI and PCR, being more complex tests, were conducted in specialized laboratories. The analyses yielded negative results for the presence of *Trypanosoma vivax* in all samples and diagnostic tests performed in this study.

Keywords: cattle farming; immunodiagnosis; *Trypanosome vivax*.

1 INTRODUÇÃO

Tripanossomíase bovina é uma enfermidade causada por um grupo de protozoários do gênero *Trypanosoma*. Essa enfermidade tem impacto econômico mundial (Adam *et al.*, 2012; Batista *et al.*, 2008). A tripanossomíase provocada pelo *Trypanosoma vivax* é originária da África tropical, onde a doença, apesar de afetar principalmente bovinos, afeta também ovinos, caprinos, equídeos e camelídeos. Conhecida como “Nagana” no continente africano, a transmissão ocorre através de vetores biológicos, principalmente em regiões infestadas pelas moscas do gênero *Glossina spp.*, conhecidas popularmente como “tsé-tsé” (Costa, 2018). De forma mecânica, ocorre a transmissão por outras moscas hematófagas como *Stomoxys spp.* e *Tabanus.*, mas também pode ocorrer por agulhas compartilhadas durante a aplicação de medicamentos, como a ocitocina em vacas leiteiras (González *et al.*, 2005).

Cerca de três milhões de bovinos são mortos anualmente e são aplicadas 35 milhões de doses de medicamentos contra o patógeno por ano na África, com déficit de até 4,5 bilhões de dólares por ano (FAO, 2004; Schofield; Kabayo, 2008). Em Minas Gerais, houve uma redução de 27% na produção de leite e declínio de 45% na taxa de prenhez em um surto da doença (Abrão *et al.* 2009); no estado de Goiás, foi observada uma diminuição de 25% na produção de leite em quatro dias posteriormente ao início de um surto (Barbosa *et al.*, 2015).

No Brasil, a tripanossomíase bovina já foi diagnosticada também em caprinos e ovinos em vários estados, como Paraíba, Maranhão, Pernambuco, Ceará, Sergipe e Minas Gerais, com relatos de óbito entre os parasitados. É importante ressaltar que em alguns animais essa enfermidade tem caráter benigno, ou seja, não há caracterização clínica da enfermidade (Madruga, 2009).

Na forma aguda da doença, os animais apresentam temperatura elevada, anemia, letargia, fraqueza e perda moderada da condição física. Os animais podem vir a óbito em cinco semanas. Em decorrência de tantos problemas sanitários, a tripanossomíase bovina vem ganhando espaço. As consequências causadas pela doença trazem vários prejuízos à pecuária, como problemas reprodutivos e queda na produção, tanto de carne como de leite (Guerra *et al.*, 2013).

Os sinais clínicos notados em animais infectados por *T. vivax* são semelhantes e inespecíficos se comparados a outros sinais de doenças parasitárias, como babesiose e anaplasmose. Por ter um difícil diagnóstico na microscopia óptica, devem ser utilizados exames laboratoriais (Meneses, 2016). Técnicas parasitológicas como esfregaço de sangue e teste de micro-hematócrito são de fácil execução (Osório *et al.*, 2008) e promovem o diagnóstico de animais infectados na fase aguda da doença (Bastos *et al.*, 2020). Entre os testes sorológicos mais utilizados para o diagnóstico das tripanossomíases, destacam-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) (Silva *et al.*, 2002). O teste de detecção molecular como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) vem apresentando excelentes resultados, pois é possível determinar as espécies de tripanossomas sob investigação (Dagnachew; Bezie, 2015).

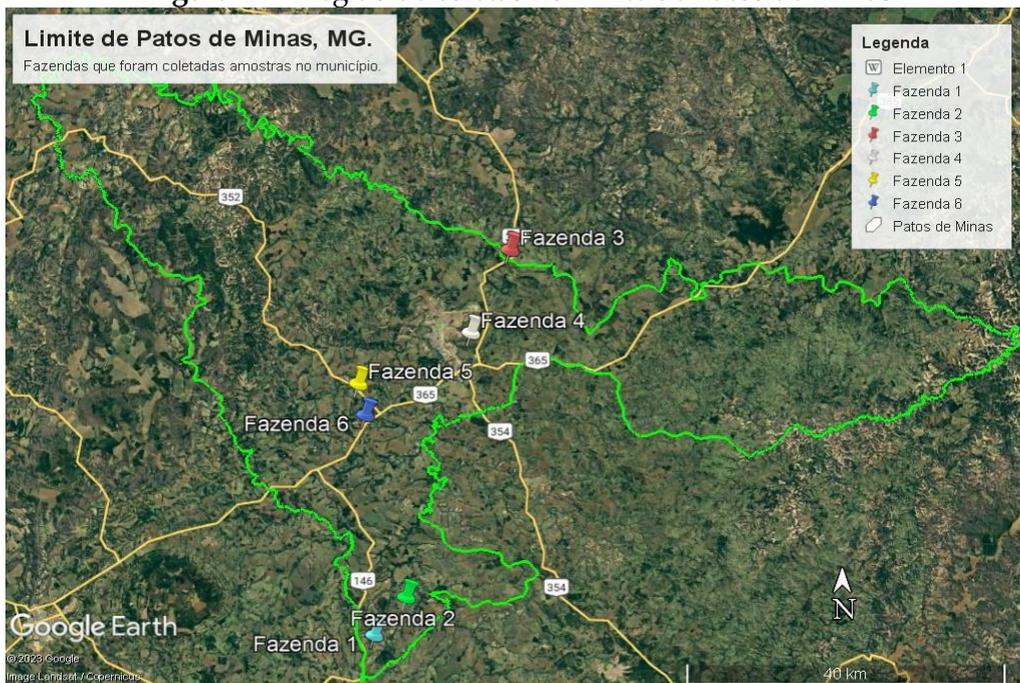
O presente estudo teve como objetivo investigar a ocorrência da tripanossomiase bovina por meio de diferentes técnicas de diagnóstico e avaliar o perfil da doença na região de Patos de Minas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O município de Patos de Minas (18° 34' 44" S, 46° 31' 4" W) está localizado no Alto Paranaíba, Minas Gerais, com área total de 3 189,771 km² e população de 153.585 habitantes (IBGE, 2020). As amostras foram analisadas a partir da coleta que se deu em fazendas na região do Alto Paranaíba, representadas no mapa da Figura 1, pegando grupos de animais aleatoriamente para as coletas de sangue bovino.

As propriedades analisadas eram de aptidão leiteira, de média à alta produção, compostas por bovinos mestiços e outras raças, como Holandês, Gir e Girolando. Os critérios de inclusão das propriedades foram propriedades sem diagnóstico anterior, histórico de fluxo de animais provenientes de outros rebanhos, alguns animais apresentando escore de condição corporal baixo e com baixa produtividade.

Figura 1 — Região de coletas no limite de Patos de Minas



Fonte: Google Earth, 2023.

Foram coletadas amostras de sangue de 55 bovinos (n = 55). A coleta para o exame ocorreu por punção da veia jugular externa e/ou da artéria coccígea. De cada animal foram colhidos 10 ml de sangue por venopunção da coccígea utilizando agulhas 25x0,8 mm em tubos tipo vacutainer contendo anticoagulante (EDTA) e sem anticoagulante (banco de soros). As amostras foram devidamente identificadas, de acordo com o brinco de identificação de cada animal e estão descritas na Tabela 1. Foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia do Centro Universitário de Patos de Minas em caixas de isopor com gelo.

AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DA TRIPANOSSOMÍASE BOVINA, EM PROPRIEDADES RURAIS DE PATOS DE MINAS (MG), PELOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO: ESFREGAÇO SANGUÍNEO, RIFI E PCR

Tabela 1 - Identificação dos animais coletados no município de Patos de Minas (MG) entre o dia 20 a 28 de julho de 2023

Fazenda	Identificação dos animais	Fazenda	Identificação dos animais	Fazenda	Identificação dos animais
	4979ABJ		4926 EPA		170 WG
	2993 ABJ		946 EPA		100 WG
1	3442 ABJ	3	4351 EPA	5	221 WG
	3741 ABJ		3935 EPA		204 WG
	3448 ABJ		LUA EPA		210 WG
	151 ABJ		08 EPA		198 WG
	841 ABJ		4817 EPA		195 WG
	632 ABJ		01 EPA		197 WG
	3458 ABJ		1970 EPA		194 WG
	256 FB		290 EA		043 SM
	384 FB		1194 EA		064 SM
	290 FB		391 EA		065 SM
	905 FB		289 EA		143 SM
2	343 FB	4	1222 EA	6	023 SM
	06 FB		1200 EA		
	026 FB		1218 EA		
	366 FB		1224 EA		
	280 FB		12220 EA		
	387 FB		285 EA		

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

O teste de esfregaço sanguíneo (*Buffy coat*) foi realizado no UNIPAM, nas dependências do Laboratório de Parasitologia do Bloco H, onde também foram preparadas e manipuladas as amostras de RIFI e PCR para envio; por serem testes que demandam metodologias mais complexas, foram feitos em laboratórios especializados. A análise e a preparação das amostras foram feitas em até 6 horas após as coletas, pois, depois desse tempo, ocorre o fenômeno chamado “apoptose”, que é a morte programada das células. As amostras de RIFI foram encaminhadas para o Hospital Veterinário da UNIUBE (Universidade de Uberaba) em Uberaba (MG); já as amostras de PCR foram enviadas para o Laboratório de Bioquímica de Hemoparasitas e Vetores na UDESC (Universidade do Estado de Santa Catarina) em Lages (SC).

2.1 TESTE DE MICROHEMATÓCRITO (WOO, 1970)

A técnica do microhematócrito consistiu em preencher aproximadamente 2/3 do volume de um capilar com o sangue, selar com chama uma das extremidades do

capilar e rotação por cinco minutos, prender o capilar na lâmina e posteriormente fazer leitura dos tubos em microscópio ótico em cinco campos sob imersão em óleo, para visualização das formas sanguíneas, que se concentram entre o plasma e a camada leucocitária no aumento de 40x.

2.2 TESTE DE BUFFY COAT

O teste consistiu em montar uma lâmina, quebrando cada capilar do micro-hematócrito na parte onde se divide o plasma com a parte celular, colocar assim uma ou duas gotas deste material numa lâmina realizando o esfregaço sanguíneo, corando com o Panótico Rápido e visualizando estrutura geral das formas tripomastigotas que pode ser observada em aumento 1000x por microscopia óptica.

2.3 REAÇÃO DE IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA PARA *TRYPANOSOMA SPP.*

O teste de fluorescência para detectar anticorpos anti-*T. vivax* foi realizado conforme metodologia descrita por Camargo (1966), com modificações.

Inicialmente, as lâminas com antígeno fixado foram retiradas do freezer e secas à temperatura ambiente e as delimitações foram feitas com esmalte. Os soros controles positivos e negativos foram diluídos em PBS nas diluições de 1:80. Para as amostras de soro dos bovinos, foram diluídos em PBS nas diluições de 1:40, 1:80 e 1:160 e distribuídos 20 µl nas lâminas contendo o Ag de *T. vivax*. A lâmina foi incubada por 30 minutos em câmara úmida a 37^o C e posteriormente lavada com PBS por três vezes de cinco minutos. Em seguida, acrescentou-se ao conjugado anti-bovino marcado com FITC na diluição 1:300. A lâmina foi novamente incubada por 30 minutos e lavada com PBS como descrito previamente. Após a secagem da lâmina a leitura foi realizada em microscópio epifluorescente Nikon[®]. As amostras foram consideradas positivas para a doença na diluição de 1:80.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas 55 amostras, nenhuma foi reagente, apesar do espaço amostral conter diversos animais coletados aleatoriamente em seis fazendas. Obteve-se resultado negativo para presença de *Tripanossoma vivax* em todas as amostras coletadas, em experimentos realizados pelo método *Buffy coat* e PCR. O RIFI não detectou anticorpos para o agente, tendo assim o resultado negativo.

Na cidade de Tapira, em Minas Gerais, foi descrita por Nascimento *et al.*, (2012) uma alta soroprevalência, em que, das 74 amostras testadas, 82,4% (61/74) foram positivas para *T. vivax* e isso pode estar relacionado a três fatores: aumento no trânsito de animais não testados, presença de vetores e uso compartilhado de agulhas entre animais de uma mesma propriedade.

Exposições agropecuárias são bastante comuns na região de Patos de Minas (MG), acarretando alto trânsito de animais não testados. Sendo assim, animais tanto de comercialização como de exposições podem ser reservatórios e disseminar a doença (Batista *et al.*, 2007). Nesse sentido, devido ao histórico apresentado pelos responsáveis

AValiação DA DISTRIBUIÇÃO DA TRIPANOSSOMÍASE BOVINA, EM PROPRIEDADES RURAIS DE PATOS DE MINAS (MG), PELOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO: ESFREGAÇO SANGUÍNEO, RIFI E PCR

das propriedades, houve, nas fazendas escolhidas em Patos de Minas (MG), entradas e saídas de animais, caracterizando-se um fluxo de bovinos oriundos de outros rebanhos. Essa movimentação inclui compras em processos leiloeiros e diretos de outras fazendas, culminando na possível dispersão da doença, como foi citado por Nascimento *et al.* (2022). Entretanto, na busca de uma melhor sanidade do rebanho, em 2023, houve uma parada brusca nas aquisições e trânsito em leilões desses animais, o que pode ter resultado na diminuição ou desaparecimento da transmissão.

Além dessa diminuição de fluxo dos animais, outro ponto a ser observado é que as fazendas desenvolveram métodos de controle da disseminação do vetor como o descarte correto de animais mortos, descarte correto do lixo e descarte de dejetos em local apropriado, diminuindo assim o contágio entre animais, o que, novamente, diminui a chance de transmissão e consequentemente de detectar a doença no rebanho. Isso já havia sido observado por Schenk *et al.* (2001), que citaram que, em rebanhos bovinos infectados por *T. vivax*, o agente contribui com a condição de oportunista, pois as práticas de manejo adotadas, a movimentação frequente dos animais e o período de restrição alimentar prolongado possibilitam a somatória de fatores que se traduzem no quadro clínico.

Outro fator que pode ter influenciado a falta de detecção da doença na região foi a quantidade de fazendas analisadas. Como dito nos estudos de Costa (2018), a prevalência aparente de tripanossomíase determinada pelos métodos parasitológicos é subestimada quando em relação à prevalência real, o que pode ser um problema em áreas de baixa prevalência ou de ocorrência sazonal, ou quando se pretende descartar a ocorrência da doença em uma área ou em um rebanho em particular.

A enfermidade é de difícil diagnóstico clínico, por se tratar de sinais clínicos inespecíficos e semelhantes a outras doenças como babesiose e anaplasmose, conforme Meneses (2016), sendo necessária a combinação de métodos de diagnóstico, como parasitológico direto, sorológico e moleculares.

As técnicas de diagnóstico parasitológico para a identificação do *T. vivax* são mais usadas a campo. É um método de fácil execução, baixo custo e agilidade no reconhecimento dos *Trypanosomas*; esse método é usado principalmente quando a parasitemia da amostra é alta (France, 2013; Gonzatti *et al.*, 2014; Campos *et al.*, 2015). Em análise dos resultados obtidos, não foi encontrado o agente etiológico, isso se dá pela resposta negativa para a presença do agente nos ensaios parasitológicos realizados por meio do teste de *Buffy coat* e PCR.

Para Callow *et al.* (1974), o teste de sorologia (RIFI), por ser de rápido, de fácil execução, de alta sensibilidade e de relativa especificidade, apresenta vantagem em relação aos outros, porém apresenta limitações no quesito de subjetividade de interpretação dos resultados, número limitado de amostras examinadas e “background” fluorescente, devido às ligações não específicas das imunoglobulinas marcadas com contaminantes (debris celulares), o que leva a possíveis falsos positivos. O fato de a sorologia não ter detectado antígenos mostra que o rebanho analisado não teve contato com o agente etiológico.

Enfim, a confirmação da ausência do agente é apresentada após o teste molecular, reação em cadeia polimerase (PCR), considerados pelos autores D’Ávila *et al.* (1997) e Madruga (2004), em seus estudos como o método mais sensível de se detectar a

presença dos *trypansomas* principalmente na fase crônica da parasitemia, quando estão no organismo em menor quantidade. Por ter uma sensibilidade maior se comparado ao exame parasitológico e sorológico, já que representa uma alternativa de diagnóstico direto. O PCR no presente estudo também apresentou resultado negativo para todas as amostras. Desse modo não foram encontrados animais positivos para a enfermidade nas propriedades desta pesquisa.

Nesse sentido, torna-se impossível realizar a análise comparativa de sensibilidade de testes, já que o espaço amostral retornou resposta negativa em relação à presença da doença no rebanho das fazendas analisadas. Porém, pôde-se realizar um confronto dos métodos bibliograficamente utilizando-se das citações dos autores citados neste trabalho.

O método parasitológico é eleito para a fase aguda onde ocorre as fases iniciais da infecção, quando há os maiores picos de parasitemia. Já os testes sorológicos podem ser utilizados em torno de 12 a 15 dias após a infecção. Na fase crônica ou aguda da doença, o teste molecular é sugerido, por detectar pequenas quantidades do *T. vivax* nas amostras (Juchem *et al.*, 2019). O teste parasitológico e o molecular são métodos diretos de diagnóstico; já o sorológico tem a identificação do agente indiretamente.

Vale salientar que, apesar do teste RIFI ter uma alta sensibilidade, pode apresentar falsos negativos como animais tripanotolerantes em que o animal não tem resposta imune contra o agente, tornando-se um portador assintomático da doença, quando o animal analisado foi tratado com drogas antiparasitárias (Callow *et al.*, 1974; Guerra *et al.*, 2013). No entanto, todas as amostras realizadas pelo método de RIFI tiveram os resultados complementados pelo teste PCR, que é uma metodologia complexa com uma alta sensibilidade e alta especificidade, como foi dito por Madruga (2004).

Determina-se sobre o comportamento da doença na região de Patos de Minas (MG) que pode não existir a doença nas fazendas analisadas, apesar das fazendas elencadas possuírem animais com sinais clínicos parecidos com a doença.

4 CONCLUSÃO

Não foi detectada a presença do agente nas fazendas analisadas localizadas na região de Patos de Minas (MG). As técnicas de diagnóstico como *Buffy coat*, RIFI e PCR apresentaram resposta negativa para pesquisa do agente, o que impossibilitou realizar uma análise estatística comparativa entre os testes. Sugere-se, para futuros, análise aprofundada de um percentual amostral maior, a fim de detectar a presença do *T. vivax* e conseqüentemente realizar a comparação dos testes de diagnóstico.

REFERÊNCIAS

ABRÃO, D. C.; CARVALHO, A.; FACURY FILHO, E. J.; 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**, Goiânia, v. 1, p. 672-676, 2009.

AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DA TRIPANOSSOMÍASE BOVINA, EM PROPRIEDADES RURAIS DE PATOS DE MINAS (MG), PELOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO: ESFREGAÇO SANGUÍNEO, RIFI E PCR

ADAM, Y.; MARCOTTY, T.; CECCHI, G.; MAHAMA, C. L.; SOLANO, P.; BENGALY, Z.; VAN DEN BOSSCHE, P. Bovine trypanosomosis in the upper west region of Ghana: entomological, parasitological and serological cross-sectional surveys. **Research in Veterinary Science**, 92(3), 462-468, 2012.

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

BASTOS T. S. A.; FARIA, A. M.; COUTO, L. F. M.; NICARETTA, J. E.; CAVALCANTE, A. S. A.; ZAPA, D. M. B. *et al.* Epidemiological and molecular identification of *Trypanosoma vivax* diagnosed in cattle during outbreaks in central Brazil. **Parasitology**, 147(12): 1313-1319, 2020. <http://dx.doi.org/10.1017/S0031182020001006>. PMID:32624014.

BATISTA, J. S., BEZERRA, F. S. B., LIRA, R. A., CARVALHO, J. R. G., ROSADO NETO, A. M., PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28(1), p. 63-69, 2008.

BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M. G.; MADRUGA, C. R.; SIMÕES, S. D. V.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 174-181, 2007.

CALLOW, L. L., MCGREGOR, W., PARKER, R. J.; DALGLIESH, R. J. Immunity of cattle to *Babesia bigemina* following its elimination from the host, with observations on antibody levels detected by indirect fluorescent antibody test. **Aust. Vet. J.**, v.50, n., p.12-18, 1974.

CAMARGO, M. E. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of Chagas' disease. Technical modification employing preserved cultural forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, n. 8, p. 229-234, 1966.

CAMPOS, M. G. S., FACURY FILHO, E. J., CARVALHO, A. U., RIBEIRO, M. F. B.; URIBE, J. A. Z. Utilização de água de coco (cocos nucifera) industrializada como conservante para *Trypanosoma vivax*. **Biológico**, 77(2), 1-235, 2015.

COSTA, RENATA VITÓRIA CAMPOS. *Trypanosoma vivax* em bovinos no estado do Rio de Janeiro 2018. 67 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). **Instituto de Veterinária**, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2018.

D'ÁVILA, A. M. R.; RAMIREZ, L.; SILVA, R. A. M. S. Morphological and biometrical differences among *Trypanosoma vivax* isolates from Brazil and Bolivia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 92 (3): 357-358. 1997.

DAGNACHEW S, Bezie M. Review on *Trypanosoma vivax*. **Afr J Basic Appl Sci** 2015; 7(1): 41-64.

FAO. The state of food and agricultura 2003-2004. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**, 2004.

FRANGE, R. C. C. **Tripanossomíase em vacas na microrregião de Uberaba (MG): estudo soroepidemiológico e relato de surto. Universidade de Uberaba**, Uberaba – MG, 2013.

GOOGLE. **Google Earth** website. Disponível em: <http://earth.google.com/>,2009. Acesso em: 11 de setembro de 2023

GONZÁLEZ, L. E.; GARCÍA, J. A.; NÚÑEZ, C.; PERRONE, T. M.; GONZALEZ-BARADAT B.; GONZATTI, M. I.; REYNA-BELLO, A. *Trypanosoma vivax*: a novel method for purification from experimentally infected sheep blood. **Exp. Parasitol**, v.111, p.126-129, 2005

GONZATTI, M. I., GONZÁLEZ-BARADAT, B., ASO, P. M.; REYNA-BELLO, A. *Trypanosoma (duttonella) vivax* and trypanosomosis in latina america: secadera/huequera/cacho hueco, 2014. Disponível em: [Trypanosoma_Duttonella_vivax_and_Typanosomosis_in_Latin_America_SecaderaHuequeraCacho_Hueco](#). Acesso em: 15 set. 2023.

GUERRA, N. R.; MONTEIRO, M. F. M.; SANDES, H. M. M.; CRUZ, N. L. N. da.; RAMOS, C. A. N.; SANTANA, V. L. de A.; SOUZA, M. M. A. de.; Alves, L. C. Detecção de anticorpos igg anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos através do teste de imunofluorescência indireta. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 12, p. 1423-1426, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Brasileiro de 2020**. Patos de Minas: IBGE, 2020.

JUCHEM, P.; DALTO, A. G. C.; GONÇALVES, R.S. **Tripanossomíase bovina**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2019.

MADRUGA, C. R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanosoma (duttonella) vivax* no Brasil. XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino Americano de Ricketisioses. Ouro Preto, MG. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, 13 (1): 46-47. 2004.

AValiaÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DA TRIPANOSSOMÍASE BOVINA, EM PROPRIEDADES RURAIS DE PATOS DE MINAS (MG), PELOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO: ESFREGAÇO SANGUÍNEO, RIFI E PCR

- MADRUGA C. R.. Epidemiologia do *Trypanosoma vivax* no Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, 2009.
- MENESES, R. M. **Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011**: soroprevalência e fatores de risco. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (MG), 2016.
- NASCIMENTO, L. F. N.; PRADO, P. P.; VENANCIO, M. A.; BITTAR, J. F. F.; MILETTI, L. Serum prevalence of anti-*T. vivax* antibodies in cattle in Tapira-MG, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 29(1), 2022.
- OSÓRIO A. 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. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 2008.
- 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*. **Pesq. Vet. Bras.**, 21 (4): 157-161, 2001.
- SCHOFIELD, C.J.; KABAYO, J.P. Tripanosomiasis vector control in Africa and Latin America. **Parasit. Vectors**, v. 1, p. 1-7, 2008.
- SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: Biologia, Diagnóstico e Controle. **Embrapa, Corumbá-MS**, p. 01-137, 2002.
- WOO, P. T. K. 1970. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomosis. **Acta Tropica**, 27, 384-386.