



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

***Trypanosoma (Duttonella) vivax* (Ziemann, 1905) EM BOVINOS DAS  
DIFERENTES MESORREGIÕES DO ESTADO DE PERNAMBUCO,  
BRASIL.**

**NEURISVAN RAMOS GUERRA**

**RECIFE**  
**2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

***Trypanosoma (Duttonella) vivax* (Ziemann, 1905) EM BOVINOS DAS  
DIFERENTES MESORREGIÕES DO ESTADO DE PERNAMBUCO,  
BRASIL.**

**NEURISVAN RAMOS GUERRA**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

**RECIFE**  
**2013**

Ficha catalográfica

G934t Guerra, Neurisvan Ramos  
*Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* (Ziemann, 1905) em bovinos  
das diferentes mesorregiões do Estado de Pernambuco, Brasil /  
Neurisvan Ramos Guerra. – Recife, 2013.

45 f. ; il.

Orientador: Leucio Câmara Alves.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) –  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de  
Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2013.

Referências.

1. Tripanossomíase 2. Protozoário 3. Diagnóstico  
4. Imunofluorescência indireta 5. Reação em cadeia da  
polimerase I. Alves, Leucio Câmara, orientador II. Título

CDD 636.089696

Dissertação à disposição na Biblioteca Central da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas às normas de ética científica.

Aos meus pais, Antonio Guerra e Francisca Ramos, pela dedicação, apoio, incentivo e confiança que em mim depositaram.

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS por estar sempre guiando os meus passos e proporcionando assim, as condições necessárias para vencer mais essa etapa da vida;

A Dra Vania Lúcia de Assis Santana pela força e incentivo na minha vida profissional;

A Dra Marcília Maria Alves de Souza pela sua solicitude e carinho;

A todos os companheiros, Luiz Evandro, Cecília, Solange, Dra Mabel e Andrea, da Unidade de Diagnóstico Bacteriológico do LANAGRO/PE pela presteza de sempre;

A Fernanda Monteiro (Sócia) pelo seu empenho, parceria e apoio no andamento desse trabalho;

A Nadine Louise, Halliny Santos (Mary Kay) e Hévila Sandes pela colaboração na sorologia;

Aos demais companheiros do Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos da UFRPE pela convivência harmoniosa;

Ao Dr. Carlos Alberto do Nascimento Ramos pela colaboração e sugestões;

Ao Professor Dr. Edvaldo Lopes de Almeida por sua contribuição nesse trabalho;

Ao Professor Dr. Leucio Câmara Alves pela orientação repleta de ensinamentos, dedicação e apoio no desenvolvimento desse trabalho;

A Luiz Augusto pelo apoio nas coletas em Itamaracá-PE;

A Leonardo Bull, Vinícius Vasconcelos (Vini, leia-se Bini) e Tiago Sampaio (Extensão) pela ajuda nas coletas em Palmares-PE;

A Bruno Alves e Vitor Fernandes pelo auxílio na realização coletas em São José do Belmonte-PE;

Ao Dr Paulo Campos por facilitar as coletas em São José do Belmonte-PE;

Aos produtores pela permissão e presteza durante as coletas.

## **FONTE FINANCIADORA**

Bolsa de mestrado concedida pela Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE.

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>   | <b>11</b> |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>   | <b>12</b> |
| 2.1 Tripanossomíases.....   | 12        |
| 2.2 Tripanossomíase bovina .....  | 12        |
| 2.2.1 Agente Etiológico .....   | 12        |
| 2.3 Ciclo Biológico do <i>Trypanosoma vivax</i> .....   | 12        |
| 2.3.1 Formas de Transmissão .....   | 13        |
| 2.3.1.1 Transmissão não cíclica.....  | 13        |
| 2.3.1.2 Transmissão Transplacentária .....  | 13        |
| 2.3.1.3 Transmissão Iatrogênica .....   | 14        |
| 2.4 Epidemiologia.....  | 14        |
| 2.5 Distribuição Geográfica .....   | 14        |
| 2.6 Sinais Clínicos.....  | 15        |
| 2.8 Diagnóstico .....   | 16        |
| <b>3. OBJETIVOS .....</b>   | <b>17</b> |
| 3.1 Objetivo Geral.....   | 17        |
| 3.2 Objetivos Específicos .....   | 17        |
| <b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>  | <b>18</b> |
| <b>CAPÍTULO 1.....</b>  | <b>24</b> |
| <b>DETECÇÃO DE ANTICORPOS IgG ANTI-<i>Trypanosoma vivax</i> EM BOVINOS ATRAVÉS DO TESTE DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA.....</b>       | <b>24</b> |
| <b>CAPÍTULO 2.....</b>  | <b>35</b> |
| <b>USO DA REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) PARA DETECÇÃO DE INFECÇÃO POR <i>Trypanosoma vivax</i> EM SANGUE DE BOVINOS .....</b> | <b>35</b> |
| <b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>   | <b>46</b> |
| <b>6 CONCLUSÕES .....</b>   | <b>46</b> |

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

**Tabela 1:** Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) de bovinos reagentes ao teste de Imunofluorescência Indireta para pesquisa de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em diferentes mesorregiões do Estado de Pernambuco .....27

### CAPÍTULO 2

**Tabela 1:** Detecção de *Trypanosoma vivax* através da Reação em Cadeia da Polimerase em bovinos das diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco, Brasil .....38



## RESUMO

*Trypanosoma vivax* determina prejuízos à produção de ruminantes, relacionados com a morbidade, queda na produção, problemas reprodutivos além de mortalidade. O presente trabalho teve como objetivo realizar o diagnóstico de *Trypanosoma (Duttonella) vivax* em bovinos das diferentes Mesorregiões do Estado de Pernambuco, Brasil, através das técnicas de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Inicialmente foi realizada sorologia de 2.053 amostras de soro sanguíneo de bovinos provenientes de rebanhos de municípios do estado de Pernambuco. A partir destes resultados foram selecionados os municípios com maiores frequências de anticorpos em cada mesorregião do Estado de Pernambuco e foram coletadas um total de 127 amostras de sangue bovino para análise molecular através da PCR. À sorologia, 13,93% (286/2.053) dos animais foram reagentes para anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax*. Já na PCR foi obtida uma positividade de 44,88% (57/127). Esses resultados sugerem que o estado de Pernambuco é área endêmica para *Trypanosoma vivax*, apresentando-se como área de instabilidade enzoótica e que a PCR mostrou-se eficiente no diagnóstico da infecção por *Trypanosoma vivax* em sangue de bovinos, sendo uma ferramenta indispensável para estudos epidemiológicos.

**Palavras-Chave:** Tripanossomíase, Diagnóstico, Anticorpos, Imunofluorescência Indireta, Reação em Cadeia da Polimerase, DNA.

## ABSTRACT

*Trypanosoma vivax* determines losses in production of ruminants related to morbidity, decline in production, reproductive problems and also mortality. The objective of this study was to determine the diagnosis of *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* in cattle of different regions of Pernambuco State, Brazil, through the techniques of Indirect Immunofluorescence Assay (IFA) and Polymerase Chain Reaction (PCR). Firstly, it was performed a serology of 2,053 serum samples from bovine herds from different counties in the state of Pernambuco. From these results the counties with the highest frequency by IFA test were selected and a total of 127 bovine blood samples were collected for molecular analysis by PCR. The results of IFAT showed 13.93% (286/2,053) of positive animals for IgG antibodies against *Trypanosoma vivax*. The amplification by PCR revealed positivity of 44.88% (57/127). These results suggest that Pernambuco state is an area endemic for *Trypanosoma vivax* being considered an enzootic instability area. On the other hand, PCR was effective in the diagnosis of *Trypanosoma vivax* in cattle blood, being an indispensable tool for studies epidemiological.

**Palavras-chave:** Tripanossomiasis, Diagnosis, Antibodies, Indirect Immunofluorescence, Polymerase Chain Reaction, DNA.

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o Brasil tem se tornado o maior exportador e segundo maior produtor de carne bovina do mundo, ultrapassando a Austrália, Estados Unidos, Holanda, Irlanda e Alemanha (RIBEIRO et al., 2005).

Para atender a essa demanda, tem-se observado uma exploração mais tecnificada, com um aumento significativo do número de animais no rebanho. Como consequência, surgem os problemas sanitários, dentre eles, aqueles causados pelas doenças parasitárias (COSTA, 2007).

Dentre as enfermidades parasitárias, o *Trypanosoma vivax* determina prejuízos à produção de ruminantes, relacionados com a morbidade (BEZERRA; BATISTA, 2008), queda na produção (GARCÍA et al., 2006), problemas reprodutivos além de mortalidade (BEZERRA ; BATISTA, 2008). Os impactos econômicos causados por *T. vivax* na produção se devem ao amplo espectro de vetores e hospedeiros susceptíveis e à imunodeficiência dos animais, em sua maioria subnutrida (GARCÍA et al., 2006).

No Brasil, o *T. vivax* foi diagnosticado pela primeira vez no Estado do Pará em 1972, infectando búfalos (SHAW; LAISON, 1972). Após este relato, focos foram relatados no Amapá (SERRA-FREIRE, 1981), Mato Grosso (SILVA et al., 1996), Tocantins (LINHARES et al., 2006), Paraíba (BATISTA et al., 2007), Maranhão (GUERRA et al., 2008), Minas Gerais (CARVALHO et al., 2008), Mato Grosso (OSÓRIO et al., 2008) e recentemente nos estados de Pernambuco (PIMENTEL et al., 2012) e São Paulo (CADIOLI et al., 2012).

Frequentemente os animais infectados por *T. vivax* apresentam letargia, diarreia, perda de apetite, fraqueza, lacrimejamento, conjuntivite, perda da condição física (SILVA et al., 1995, 1996 e 1999), febre, anemia e morte (SILVA et al., 1997).

Vários são os métodos para diagnóstico da tripanossomíase bovina, a saber: parasitológico, através da demonstração dos parasitas em exame de sangue à fresco em esfregaços sanguíneos delgados ou espessos, corados pelo Giemsa (SILVA et al., 1999); sorológicos (RADOSTITS, 2000), através do teste de Imunofluorescência Indireta, teste de aglutinação em tubo capilar ou teste imunoenzimático (NANTULYA, 1987); e molecular, por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (MADRUGA et al., 1999).

Tendo em vista a escassez de informações sobre a infecção por *T. vivax* em bovinos no Estado de Pernambuco, objetivou-se o diagnóstico de *Trypanosoma (Dutonella) vivax* (Ziemann, 1905) em bovinos das diferentes Mesorregiões do Estado de Pernambuco, Brasil.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Tripanossomíases**

Tripanossomíases são doenças acometidas por protozoários patogênicos do gênero *Trypanosoma*, que podem infectar o homem, animais domésticos e silvestres. Dependendo de sua forma de transmissão ao hospedeiro definitivo, as espécies desse gênero são divididas em: Salivaria e Stercoraria. A transmissão de *Trypanosoma* sp. pertencentes ao grupo Stercoraria, acontece quando o vetor triatomíneo deposita as formas infectantes junto com suas fezes no local da picada (GARDINER, 1989). O grupo Salivaria inclui *Trypanosomas* africanos, transmitidos por moscas tsé-tsé do gênero *Glossina* sp., através da saliva contendo o parasita. Este grupo tem como principais espécies: *T. vivax*, *T. congolense*, *T. brucei* e *T. suis* (STEPHEN, 1986) *T. brucei rhodesiense* e o *T. brucei gambiense* (MYLER, 1993).

Os tripanossomas patogênicos de importância na pecuária estão classificados na seção Salivaria, dos quais apenas *T. vivax*, *T. equiperdum* e *T. evansi* ocorrem na América do Sul (SILVA et al., 2002).

### **2.2 Tripanossomíase bovina**

#### **2.2.1 Agente Etiológico**

O agente etiológico da tripanossomíase bovina ou nagana é o *T. vivax* que são organismos unicelulares, eucarióticos, flagelados, da classe Mastigophora, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, subordem Trypanosomatina e do subgênero Duttonella (HOARE, 1972).

### **2.3 Ciclo Biológico do *Trypanosoma vivax***

O *T. vivax* encontrado na América do Sul é transmitido mecanicamente devido à perda da habilidade de se desenvolver ciclicamente. *T. vivax* africano é transmitido ciclicamente pelas moscas tsé-tsé. As formas sanguíneas tripomastigotas do hospedeiro infectado são ingeridas pelo vetor e localizadas no esôfago e faringe (MOLOO; GRAY, 1989) transformando-se em formas epimastigotas. Após 24 horas essas formas migram para o canal alimentar se multiplicando intensivamente e se direcionam as paredes do labro permanecendo nelas. Já as formas epimastigotas migram depois em direção à hipofaringe onde se transformam em formas tripomastigotas, e depois em formas infectantes, também chamadas “metatripanosomas” (SILVA et al., 2002).

O ciclo biológico é confinado a região da probóscide dos insetos vetores *Stomoxys calcitrans* e tabanídeos, podendo ocorrer invasão no intestino médio, onde o parasita não consegue sobreviver por muito tempo. O estágio evolutivo do *T. vivax* está ligado com a modulação da superfície que é revestida por glicoproteínas e perda de adesão flagelar das formas epimastigota (SOUZA, 2005).

### **2.3.1 Formas de Transmissão**

Na África, *Trypanosoma vivax*, é transmitido ciclicamente pelas moscas tsé-tsé do gênero *Glossina* sp. (LEVINE, 1973). Já, em outras regiões da África e na América Latina, onde o vetor biológico está ausente, a transmissão ocorre mecanicamente por moscas pertencentes à família Tabanidae (PAIVA et al., 2000).

Em áreas que não existem moscas, esse parasita se adaptou à transmissão mecânica em outras espécies de dípteros hematófagos, tais como tabanídeos e *Stomoxys* spp. (CORDOVES et al., 1982; ANOSA, 1983).

#### **2.3.1.1 Transmissão não cíclica**

A transmissão mecânica é variável de um lugar para outro, dependendo da quantidade de hospedeiros e dípteros hematófagos do ambiente e também das espécies de *Tripanossoma*. Dípteros hematófagos maiores, os tabanídeos, carregam mais sangue além de serem mais propensos a agirem como vetores mecânicos do que mosquitos. Esta forma de transmissão provou ser capaz de prover a manutenção de *T. vivax* na América do Sul e Central além do *T. evansi* no norte da África e Ásia (UILENBERG, 1998).

Moscas das famílias Tabanidae, Stomoxidinae e Hippoboscidae podem transmitir mecanicamente os *Tripanossomas* por meio de suas peças bucais quando fazem o repasto sanguíneo em mais de um animal (PAIVA, 2009) em um período inferior a 10 minutos em outro animal saudável (OTTE E ABUABARA, 1991).

#### **2.3.1.2 Transmissão Transplacentária**

Ikede e Losos (1972) observaram a transmissão transplacentária em cordeiros, provenientes de ovelhas inoculadas experimentalmente com *T. vivax* no terço final da gestação. Posteriormente, Okech et al. (1996); Betancourt (1978) e Meléndez et al (1993) confirmaram esse modo de transmissão, o qual segundo Ogwu et al. (1986) pode estar associado com a ocorrência de abortos e natimortos.

### **2.3.1.3 Transmissão Iatrogênica**

Essa forma de transmissão pode ocorrer pela utilização de uma única agulha para administração de medicamentos, vacinas (SILVA et al., 1997) ou instrumentos veterinários utilizados em mais de um animal, em pouco tempo, sendo o suficiente para que o sangue contido neles não coagule e/ou envelheça. Ocorrendo também quando os animais são submetidos a cirurgias em curto espaço de tempo, como: castrações, descornas cirúrgicas, etc. (UILENBERG, 1998).

## **2.4 Epidemiologia**

No continente africano, a tripanossomíase nos animais é conhecida como “nagana” ou “secadeira”, termo que abrange a infecção por *T. vivax*, *T. congolense* e *T. brucei brucei* (GARDINER, 1989).

A tripanossomíase provocada por *T. vivax* distribuí-se largamente na África, principalmente em áreas de distribuição das moscas tsé-tsé, todavia, o parasita se encontra em regiões tropicais e subtropicais do mundo (LEVINE, 1973).

Esse hematozoário acomete, principalmente ungulados, incluindo bovinos, ovinos, caprinos, equinos, camelos várias espécies de antílopes selvagens e búfalo africano. Porcos, cães, gatos e animais de laboratório são resistentes ao parasita. No entanto, é possível adaptar artificialmente cepas de *T. vivax* em roedores de laboratório (GARDINER, 1989).

Em infecções experimentais, *T. vivax* tem maior patogenicidade em caprinos e ovinos que em bovinos (ANOSA, 1983).

Pode-se dizer que algumas raças de ruminantes domésticos são relativamente resistentes a infecção de *T. vivax* apresentando resistência natural e permanecem na condição de portadores assintomáticos (MATTIOLI ; WILSON, 1996). Este fenômeno está bem documentado na raça de bovinos N'Dama (*Bos taurus*), que possui habilidade de controlar o nível de parasitemia, sendo capaz de sobreviver em áreas infestadas por tsé-tsé, sem a utilização de medicamentos (KEMP; TEALE, 1998; MURRAY; TRAIL et al., 1984; BLACK et al, 2001).

## **2.5 Distribuição Geográfica**

*T. vivax* tem larga distribuição na África, principalmente em áreas ocupadas pela mosca tsé-tsé, no entanto, o parasita se encontra em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (LEVINE, 1973).

Sua ampla distribuição fora de seu local de origem, o continente africano, é atribuída a sua habilidade de adaptação à transmissão mecânica por insetos hematófagos tais como tabanídeos e *Stomoxys* spp. (ANOSA, 1983; CORDOVES et al., 1982; OTTE; ABUABARA, 1991).

No Oeste da África, considera-se o *T. vivax* a espécie mais patogênica e importante entre as tripanossomíases que afetam os bovinos (SILVA et al., 2004).

O primeiro aparecimento nas Américas foi observado, na Guiana Francesa, em 1919 (LEGER ; VIENE, 1919). Posteriormente foi descrito um surto na Costa Atlântica da Colômbia em 1931, quando ocorreu uma enfermidade com caráter crônico com sinais clínicos sugestivos em animais que apresentaram o parasita em esfregaços sanguíneos (ZAPATA, 1931).

A ocorrência de *T. vivax* no Brasil foi registrada pela primeira vez em búfalos no Estado do Pará (SHAW; LAINSON, 1972), seguido de identificação da doença em ovinos e bovinos da região amazônica (PEREIRA; ABREU, 1978); em búfalos no Amapá (SERRA-FREIRE, 1981); em bovinos do Pantanal (SERRA-FREIRE, 1983; SILVA et al., 1995, 1996) e no Mato Grosso do Sul (BARBOSA JÚNIOR et al., 2001; PAIVA et al., 1997).

É notória a expansão de *T. vivax* nos últimos anos pelo território brasileiro, tendo sido registrados surtos na Paraíba (BATISTA et al., 2007), Tocantins (LINHARES et al., 2006), Maranhão (GUERRA et al., 2008), Pernambuco (PIMENTEL, 2012), Minas Gerais (CARVALHO et al., 2008) e São Paulo (CADIOLI et al., 2012) demonstrando a importância do estudo sobre as alterações causadas por esse parasito.

## **2.6 Sinais Clínicos**

Os sinais clínicos da tripanossomíase incluem anemia, letargia, perda progressiva de peso, queda na fertilidade e produção de leite e de carne, aborto, agalaxia e, eventualmente, morte (DELAFOSSÉ et al., 2006).

Silva et al. (1999) observaram que os principais sinais clínicos encontrados em bovinos infectados foram anemia, lacrimejamento, palidez das mucosas, perda progressiva de peso, inapetência, diarreia e aborto durante o terceiro trimestre de gestação.

Sinais neurológicos caracterizados por incoordenação, tremores musculares, cegueira transitória e/ou permanente tem sido descritos em bovinos leiteiros adultos no município de Catolé do Rocha, sertão da Paraíba (BATISTA et al. 2007).

## 2.8 Diagnóstico

O diagnóstico parasitológico é o mais utilizado no Brasil em se tratando de infecções por *T. vivax* em rebanhos de bovinos (MADRUGA, 2004). Esse método é realizado a partir de esfregaços sangüíneos corados, e após isso é observado em microscopia óptica (SILVA et al., 2002). A infecção por *T. vivax* pode ser classificada como aguda ou crônica.

Na fase aguda, quando os protozoários estão abundantes a identificação morfológica do parasita é possível através de métodos diretos, por meio de exames de sangue fresco entre lâmina e lamínula (GARDINER, 1989). Quando a parasitemia diminui, torna-se baixa e intermitente, sendo necessária a utilização da técnica da centrifugação do sangue em tubo capilar (WOO, 1970).

Na fase crônica da doença, os testes sorológicos são indicados quando há infecção subclínica nos rebanhos (EISLER et al., 1998).

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) são os métodos sorológicos mais comumente utilizados para o diagnóstico de tripanossomíases em seres humanos e animais, e apresentam sensibilidade variável que, na maioria das vezes, não apresentam especificidade suficiente para diferenciar as diferentes espécies de tripanossomos (EISLER et al., 1998; DESQUESNES; TRESSE, 1996; MASAKE et al., 1997).

Métodos moleculares, como a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), são de grande relevância no diagnóstico desse protozoário, especialmente quando presentes no organismo em quantidades extremamente reduzidas (REIFENBERG et al., 1997). Além disso, possibilitam a caracterização genética de cepas e sua correlação com peculiaridades da relação parasita-hospedeiro (VENTURA et al., 2001).



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

- Realizar o diagnóstico de *Trypanosoma (Duttonella) vivax* em bovinos das diferentes Mesorregiões do Estado de Pernambuco, Brasil.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Realizar diagnóstico sorológico do *T. vivax* por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta;
- Realizar o diagnóstico molecular do *T. vivax* através da Reação em Cadeia da Polimerase;
- Identificar os municípios endêmicos para *T. vivax* de acordo com as mesorregiões do Estado de Pernambuco.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANOSA, V.O. Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. **Review Article Veterinary Medical**, v. 30, n.10, p.717-741, 1983.

BARBOSA JÚNIOR, N. S.; MADRUGA, C. R.; OSÓRIO, A. L. A. R.; RIBEIRO, L. R. R.; ALMEIDA, R. F. C. Descrição de surto de tripanossomose bovina por *Trypanosoma vivax*, com morte perinatal no Pantanal de Aquidauana, MS. **IV CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA**, Campo Grande, MS, p. 135, 2001.

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, n.2, p. 174-181, 2007.

BETANCOURT, A. Transmission prenatal Del *Trypanosoma vivax* de bovinos em Colômbia. **Revista ICA Bogotá** (Colômbia), n. 13, p.127-129, 1978.

BEZERRA, F. S. B.; BATISTA J. S. Efeitos da infecção por *Trypanosoma vivax* sobre a reprodução: uma revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p.61-66, 2008.

BLACK, S. J.; SEED, J. R.; MURPHY N. B. Innate and acquired resistance to African trypanosomiasis. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n. 1, p. 1-9, 2001.

CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. DE A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS 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 Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.21, n.2, p.118-124, 2012.

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

CORDOVES, C. O.; FERNANDES, C.; GARCIA-AVILA, I. & BROCHE G. R. *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905). Lista de transmissores mecânicos en Cuba. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, v. 13, n. 2, p. 219-221, 1982.

- COSTA, M. S. V. L. F. Dinâmica das infecções por helmintos gastrintestinais de bovinos na região do vale do mucuri, MG. **Instituto de Ciências Biológicas da UFMG**, Belo Horizonte, p-18-21, 2007.
- DELAFOSSÉ, A.; THÉBAUD, E.; DESQUESNES, M., MICHAUX, Y. Epidemiology of *Trypanosoma vivax* infection in cattle in the tsetse free area of Lake Chad. **Preventive Veterinary Medicine**, v.74, n, 2-3, p.108-119, 2006.
- DESQUESNES, M.; TRESSE, L. Evaluation de la sensibilité de la PCR pour la détection de l'ADN de *Trypanosoma vivax* selon divers modes de préparation des échantillons sanguins. **Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux**, v. 49, n.4, p. 322-327, 1996.
- EISLER, M. C. PIERRE LESSARD, P.; MASAKE, R. A.; MOLOO, S.K.; PEREGRINE, A. S. Sensitivity and specificity of antigen-capture ELISA for diagnosis of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma vivax* infections in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 79, p.187-201, 1998.
- GARCIA, H.; GARCIA, M. E.; PEREZ, G.; BETHENCOURT, A.; ZERPA, E.; PEREZ, H.; LEON, A. M. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. In: **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v.100, n. 4, p.297-305, 2006.
- GARDINER, P. R. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. **Advances in Parasitology**, v.28, p.229-317, 1989.
- GUERRA, R. M. S. N. C.; JÚNIOR, B. F.; SANTOS, H. P.; SILVA, A. L. A.; SANTOS, A. C. G. S. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.3, p.833-835, 2008.
- HOARE, C. A. The trypanosomiasis of mammals: a zoological monograph. Oxford: **Blackwell Scientific Publications**, p. 55-93, 1972.
- IKEDE, B. O.; LOSOS, G. J. Hereditary transmission of *Trypanosoma vivax* in sheep. **British Veterinary Journal**, v. 128, n.1, p. 1-2, 1972.
- KEMP, S. J.; TEALE, A. J. Genetic basis of trypanotolerance in cattle and mice. **Parasitology Today**, v. 14, n. 11, p. 450-454, 1998.
- LEGER M. & VIENNE M. Epizootie a trypanosomes chez les bovines de la Guayane Française. **Bulln Société Pathologie Exotique**, v.12, p.216-258, 1919.

LEVINE, N. D. **Protozoan parasites of domestic animals and man**. 2 ed. Minneapolis: Burguers, p.406, 1973.

LINHARES, G. F. C., DIAS FILHO, F. D., FERNANDES, P. R., DUARTE, S. C. Tripanossomiase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins. Relato de Caso. **Ciência Animal Brasileira**. v. 7, n. 4, p. 455- 460, 2006.

MADRUGA , C.R.; ARAÚJO, F.R.; CRUZ , T.M.; SCHENK, M.A. M. Desenvolvimento de Uma Prova de Imunoabsorção Enzimática para Detecção De Anticorpos Contra *Trypanosoma vivax* em Bovinos: Resultados Preliminares. Embrapa-CNPGC, Campo Grande. Pesquisa em Andamento, Nº 50, junho de 1999, p. 1-3. Embrapa- CNPGC. 1999.

MADRUGA, C. R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanosoma* (*Duttonella*) *vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n. 1, p.46-47, 2004.

MASAKE, R.A.; MAJIWA, P.A.O.; MOLOO, S.K.; MAKAU, J.M.; NJUGUNA, J.T.; MAINA, M.; KABATA, J.; OLE LOI YOI, O.K.; NANTULYA, V.M. Sensitive and specific detection of *Trypanosoma vivax* using the polymerase chain reaction. **Experimental Parasitology**, v. 85, p. 193–205, 1997.

MATTIOLI, R. C.; WILSON, R. T. Trypanosomes, tsetse and trypanotolerance: coevolution in tropical Africa. **Parasitology**, n. 38, p. 531-535, 1996.

MELENDEZ, R.D.; FORLANO, M.; FIGUEROA, W. Perinatal infection with *Trypanosoma vivax* in a calf in Venezuela. **Journal Parasitology**, v.79, p.293-294, 1993.

MOLOO, S. K.; GRAY, M. A. New observations on the cyclical development of *Trypanosoma vivax* in *Glossina*. **Acta Tropica**, Basel, v.4, p.167–172, 1989.

MURRAY, M.; TRAIL, J. C. M. Genetic resistance to animal trypanosomiasis in Africa. **Preventive Veterinary Medicine**, v.2, p.541-51, 1984.

MYLER, P. J. Molecular variation in trypanosomes. **Acta Tropica**, v. 53, p. 205-225, 1993.

NANTULYA, V. M.; MUSOKE, A. J.; RURANGIRWA, F. R.; SAIGAR, N.; MINJA, S. H. Monoclonal antibodies that distinguish *Trypanosoma congolense*, *T. vivax* and *T. brucei*. **Parasite Immunology**. v.9, n.4, pages 421–431, July 1987.

OGWU, D.; NJOKU, C.O.; OSORI, D.I.K. Effects of experimental *Trypanosoma vivax* infection on first, second, and third-trimester pregnancy in heifers. **Theriogenology**, v. 25, p.383-398, 1986.

OKECH, G.; WATSON, E.D.; LUCKINS, A.G.; MAKAWITI, D.W. The effect of *Trypanosoma vivax* infection on late pregnancy and postpartum return to cyclicity in boran cattle. **Theriogenology**, v. 46, p. 859-869, 1996.

OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C. O.; RIBEIRO, L. R. R.; COSTA, C. G. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World- A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 1-13, 2008.

OTTE, M. J.; ABUABARA, J. Y. Transmisión of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. **Acta Tropica**, v. 49, p. 73-76, 1991.

PAIVA F.; LEMOS, R. A.; OSHIRO, A. E.; SALVADOR, S. C.; NAKASATO, L. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 6, p.349, 1997.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKASATO, L.; MORE, A. E.; BRUM, K. B.; BERNADO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil: I – Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.9, n.2, p.135-141, 2000.

PAIVA, E. S. Tripanossomíase por *trypanosoma vivax* em pequenos ruminantes: descrição de surtos e infecção experimental da doença. 2009. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Agosto, 2009.

PEREIRA, L. J.; ABREU, A. C. V. V. de. Ocorrência de tripanosomas em bovinos e ovinos na região amazônica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.13, n.3, p.17-21, 1978.

PIMENTEL, D. S.; RAMOS, C. A. N.; RAMOS, R. A. do N.; ARAÚJO, F. R.; BORBA, M. L.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.185, p.286-289, 2012.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. **Veterinary medicine**. 9.ed. London: W.B. Saunders, . 1877p., 2000.

REIFENBERG, J. M. et al. Molecular characterization of trypanosomes isolates from naturally infected domestic animals in Brukina Faso. **Veterinary Parasitology**., v. 71, p. 251-262, 1997.

RIBEIRO, C. F. A. R.; ALMEIDA, O. T.; RIBEIRO, S. C. A. R.; Exportação brasileira de carne bovina: uma análise de comércio exterior. **IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba**, p. 1894-1897, 2005.

SERRA-FREIRE, N. M. Oiapoque-outra foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.4, p.30-31, 1981.

SERRA-FREIRE, N. M. Reavaliação dos focos de *Trypanosoma vivax* Ziemann 1905 em bovinos e bubalinos no Território Federal do Amapá (TFA). **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária da UFF**, v.1, p.41-45, 1983.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brasil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.66, p. 25-32, 1972.

SILVA, R. A. M. S.; SILVA, J. A.; SCHNEIDER, R. C.; FREITAS, J.; MESQUITA D. P.; MESQUITA T. C.; RAMIREZ, L.; DAVILA, A. M. R.; PEREIRA, M. E. B. Bovine tripanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in the northern subregion of Pantanal, Brazil. **Trypnews**, San Juan de los Morros, v.2, p.1-2, 1995.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: Biologia, Diagnóstico e Controle. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária **Embrapa Pantanal Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Corumbá, Mato Grosso do Sul, 2002.

SILVA, R. A. M. S.; da SILVA, J. A.; SCHNEIDER, R. C.; de FREITAS, J.; MESQUITA, T. C.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R.. & PEREIRA, M. E. B. Outbreak of trypanomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 5, p. 561-562, 1996.

SILVA, R. A. M. S.; DAVILA, A. M. R.; RAMIREZ, L.; PELLEGRIN, A. O. Abortions caused by *Trypanosoma vivax* in bovines from the Pantanal of Poconé, MT, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v.92, supl. 1, 1997.

SILVA, R. A. M. S., RAMIREZ, E. S. S. L. L., SOUZA, S. S., ORTIZ, A. G., PEREIRA, S. R. & DÁVILA, A. M. R. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian Wetlands. **Veterinary Parasitology**, v. 85, n. 1, p. 87-93, 1999.

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. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2004. 30p.

SOUZA, E. A. **Geração e análise de GSS (Genome survey sequences) de *Trypanosoma vivax***, Florianópolis, 2005.

STEPHEN, L. E. **Trypanosomiasis: a veterinary perspective**. Pergamon Press, New York, 533p., p. 489-533, 1986.

UILENBERG, G. **A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African animal trypanosomosis**. Food and Drug and Agriculture Organization of the United Nations. Rome-FAO. (adapted from the original edition by W. P. Boyt) ISBN 92-5-104238-1. 1998.

VENTURA R.M., PAIVA F., SILVA R.A.M.S., TAKEDA G.F., BUCK G.A. & TEIXEIRA M.M.G. *Trypanosomavivax*: characterization of the spliced-leader gene for a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic space sequence. *Exp. Parasitol.*99:37-48. 2001.

WOO, P.T.K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomosis. **Acta Tropical.**, v. 27, p. 384–386, 1970.

ZAPATA, A. 1931. La afección de los ganados llamada vulgarmente "huequera", "secadera", "cachohueco". **Revista de Medicina Veterinária**, Buenos Aires, 3:165-180.

## **CAPÍTULO 1**

### **DETECÇÃO DE ANTICORPOS IgG ANTI-*Trypanosoma vivax* EM BOVINOS ATRAVÉS DO TESTE DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA<sup>1</sup>.**

---

<sup>1</sup> Artigo submetido à Revista Pesquisa Veterinária Brasileira



## **Detecção de anticorpos IgGanti-*Trypanosomavivax* em bovinos através do teste de Imunofluorescência indireta**

Neurisvan R. Guerra<sup>2</sup>, Maria F.M. Monteiro<sup>2</sup>, Hévila M.M. Sandes<sup>2</sup>, Nadine Louise Nicolau da Cruz<sup>2</sup>, Carlos A. do N. Ramos<sup>2</sup>, Vania Lúcia de Assis Santana<sup>3</sup>, Marcília Maria Alves de Souza<sup>3</sup> e Leucio Câmara Alves<sup>2\*</sup>

**ABSTRACT.-** 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. 2013. [**Detection of IgG antibodies against *Trypanosomavivax* in cattle by indirect immunofluorescence test.**] Detecção de anticorpos IgGanti-*Trypanosomavivax* em bovinos através do teste de Imunofluorescência indireta. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brazil. E-mail: [leucioalves@gmail.com](mailto:leucioalves@gmail.com)

*Trypanosomavivax* infects a wide range of wild and domestic ungulates, causing important losses on the livestock industry. The aim of the present study was to assess the detection of IgG antibodies against *Trypanosomavivax* in cattle from the state of Pernambuco, Brazil. Therefore, we analyzed 2,053 blood serum samples from bovine herds of municipalities in the state of Pernambuco, which were analyzed by Immunofluorescence Assay. The overall seroprevalence of IgG antibodies against *T. vivax* in cattle was 13.93% (286/2053). The frequencies, by region, varied from 11.90% to 15.99%. Thus, the data obtained allowed for the characterization of the state of Pernambuco as an area of enzootic instability to *T. vivax*. The frequency herein reported (i.e., 13.93%) indicates that the state of Pernambuco is an endemic area for *Trypanosomavivax*, this parasite being spread throughout the state.

**INDEX TERMS:** *Trypanosomacruzi*, protozoan, trypanosomiasis, cattle, serology, frequency, enzootic instability.

---

<sup>2</sup> Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil. \*Autor para correspondência: [leucioalves@gmail.com](mailto:leucioalves@gmail.com)

<sup>3</sup> Laboratório Nacional Agropecuário (Lanagro), Rua D. Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-120.

**RESUMO.-** *Trypanosoma vivax* infecta uma grande variedade de animais ungulados selvagens e domésticos, podendo causar grande impacto na produção de ruminantes. Este trabalho teve como objetivo avaliar a detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos provenientes do estado de Pernambuco, Brasil. Para tanto, foram analisadas 2,053 amostras de soro sanguíneo de bovinos provenientes de rebanhos de municípios do estado de Pernambuco, os quais foram analisados através da Reação de Imunofluorescência Indireta. Das amostras testadas 13,93% (286/2.053) foram reagentes para anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax*. As frequências, por mesorregião, variaram de 11,90% a 15,99%. Assim, os dados obtidos permitiram a caracterização do estado de Pernambuco como uma área de instabilidade enzoótica e sugere que o estado Pernambuco é área endêmica para *Trypanosoma vivax* estando este parasito distribuído por todo o estado.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Imunofluorescência Indireta, protozoário, tripanossomíase, bovinos, sorologia, frequência, instabilidade enzoótica.

## INTRODUÇÃO

*Trypanosoma vivax* infecta uma grande variedade de animais ungulados selvagens e domésticos, podendo causar grande impacto na produção de ruminantes na África, Américas Central e do Sul e Caribe (Gardiner 1989, Jones & Dávila 2001; Silva et al. 2004, Osório et al. 2008).

Animais infectados podem apresentar-se assintomáticos, ou exibir sinais clínicos como anemia, perda de peso, sinais neurológicos, abortos (Silva et al. 1999, Batista et al. 2007), agalaxia, quedas na produção de leite e carne, e, eventualmente, morte (Delafosse 2006).

No Brasil, *T. vivax* foi diagnosticado no Estado do Pará em 1972, infectando búfalo (Madruga et al. 1999). Em seguida, o protozoário foi detectado nos estados do Amapá (Serra-Freire 1981); Mato Grosso (Silva et al. 1996; Osório et al. 2008); Tocantins (Linhares et al. 2006); Minas Gerais (Carvalho et al. 2008); Paraíba (Batista et al. 2007); Maranhão (Guerra et al. 2008) e recentemente no estado de Pernambuco (Pimentel et al. 2012).

Tendo em vista a escassez de informações sobre a frequência do *T. vivax* em bovinos no Estado de Pernambuco, este trabalho tem como objetivo avaliar a detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos provenientes do estado de Pernambuco, Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

O Estado de Pernambuco (8° 4' 14" S, 37° 15' 57" O) está localizado na região Nordeste do Brasil. Possuindo uma área total de 98.938 km<sup>2</sup> e uma população de 8.541.250 habitantes (IBGE 2010).

Foram analisadas 2.053 amostras de soro sanguíneo de bovinos provenientes de rebanhos de municípios do estado de Pernambuco a partir do banco de soros gentilmente cedido pelo Laboratório Nacional Agropecuário em Pernambuco (Lanagro/MAPA). Os testes foram realizados através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) segundo Silva et al. (2002).

A estatística foi realizada por meio do teste do qui-quadrado utilizando-se o software BioEstat 5.0 com nível de significância de 5%.

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 049/2012.

## RESULTADOS

Das 2.053 amostras testadas 13,93% (286/2.053) foram reagentes para anticorpos IgG anti-*Trypanosomavivax*. Este é o primeiro inquérito sorológico para detecção de anticorpos contra *T. vivax* em bovinos no estado de Pernambuco, os quais tiveram presentes em todas as mesorregiões estudadas (Tabela 1).

Esses dados indicam que as frequências, por mesorregião, variaram de 11,90% a 15,99%. No entanto, a análise estatística não revelou diferenças significativas entre frequências nas mesorregiões ( $p > 0.05$ ) ( $\chi^2 = 3.7$ ;  $p = 0.2962$ ).

**Tabela 1** - Frequência Absoluta (FA) e Frequência Relativa (FR) de bovinos reagentes ao teste de Imunofluorescência Indireta para pesquisa de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em diferentes mesorregiões do Estado de Pernambuco

| Mesorregiões | Positivos |       | Negativos |       |
|--------------|-----------|-------|-----------|-------|
|              | FA        | FR(%) | FA        | FR(%) |
| Litoral      | 32        | 11,90 | 237       | 88,10 |
| Zona da Mata | 49        | 12,34 | 348       | 87,66 |
| Agreste      | 118       | 14,00 | 725       | 86,00 |
| Sertão       | 87        | 15,99 | 457       | 84,01 |
| TOTAL        | 286       | 13,93 | 1797      | 86,07 |

## DISCUSSÃO

Os resultados aqui foram superiores às taxas de prevalência encontradas em Uganda, Zambia, Guyana, Etiópia e Perú que variaram de 0,05% a 4,8% (Craig 1975, Magona et al. 1999, Quispe et al. 2003, Sinyangwe 2004, Mulaw 2011) e inferiores às registradas por Toro (1976), Omotainse (1993) Abebe&Jobre(1996), Abenga et al. (2004), Guedes Jr (2006), Ezebuiri(2009) e Suárez(2009) que relataram a presença de *T. vivax* em 20,7% a 100% dos bovinos procedentes da Venezuela, Etiópia, Nigéria e Brasil.

Contudo, os resultados obtidos estão próximos daqueles observados por Corten(1988), que relatou 10,22% de positividade em inquérito realizado na Zambia, e por Connor&Halliwell (1987) que encontraram 17% de prevalência de *Trypanosoma vivax*, na Tanzânia.

Estudos sobre *T. vivax* no Brasil foram pontuais (Silva et al. 1996, Ventura et al. 2001, Cortez et al. 2006, Madruga et al. 2006, Baptista-Filho et al. 2011) em função da descrição da ocorrência ou prevalência da doença em um determinado local.

Neste trabalho, os dados obtidos permitiram a caracterização do estado de Pernambuco como uma área de instabilidade enzoótica para *T. vivax*, de acordo com o conceito citado por Smith et al. (2000). Situação contrária ocorre na região do Pantanal, no Brasil, onde a presença de *T. vivax* raramente está associada com doença clínica em bovinos, búfalos e veados (Ventura et al. 2001, Dávila et al. 2003).

Essa instabilidade enzoótica citada ocorre provavelmente em consequência do ambiente desfavorável para o desenvolvimento de vetores durante a maior parte do ano em virtude da existência de períodos prolongados de secas e altas temperaturas (Batista et al. 2008).

É provável que a introdução desse parasito em Pernambuco tenha ocorrido devido ao trânsito de animais cronicamente infectados de regiões de ocorrência para regiões livres do protozoário (Batista et al. 2007, Pimentel et al. 2012).

Nos últimos anos, a fim de melhorar os rebanhos geneticamente, tem havido uma grande introdução de animais a partir de diferentes regiões do país no Nordeste. Este trânsito de animais pode ter contribuído para a entrada desse protozoário na região estudada (Batista et al. 2008). Razões semelhantes foram propostas por Carvalho et al. (2008), em Minas Gerais, onde um surto de *T. vivax* foi relatado. Este movimento de animais tem sido importante para a dispersão deste protozoário no Brasil (Linhares et al. 2006).

Assim, considerando o aumento da área com incidência endêmica de *T. vivax* no Brasil e a presença desse hemoprotozoário em vários países da América Latina (Dávila et al. 2003), provocando perdas econômicas importantes para a bovinocultura (Seidl et al. 1999), o diagnóstico epidemiológico e etiológico tornam-se imprescindíveis (Madruga et al. 2006).

É importante destacar que em nosso estudo boa parte dos animais testados são criados juntos com outras espécies, como cabras, ovelhas e búfalos, que são considerados potenciais reservatórios assintomáticos do parasita (Batista et al. 2006, Rodrigues et al. 2008).

A frequência aqui reportada sugere que o estado de Pernambuco é área endêmica para *Trypanosoma vivax* apresentando-se como área de instabilidade enzoótica

**Agradecimentos.**- Ao Laboratório Nacional Agropecuário de Pernambuco (Lanagro), pelas amostras de soros sanguíneos de bovinos. À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (Facepe), pela concessão de bolsa de mestrado.

## REFERÊNCIAS

- Abebe G. & Jobre Y. 1996. Trypanosomiasis: a threat to cattle production in Ethiopia. *Revta Med. Vet.* 147:897–902.
- Abenga J.N., Enwezor F.N.C., Lawani F.A.G., Osue H.O. & Ikemereh E.C.D. 2004. Trypanosome Prevalence in Cattle in Lere Area in Kaduna State, North Central Nigeria. *Revue Élev.Méd.Vét.Pays Trop.* 57:45-48.
- Baptista-Filho L.C.F., Fernandes A.C.C., Silva T.I.B., Souza A.C.M., Sandes H.M.M., Alves L.C. & Melo L.E.H. 2011. Infecção por *Trypanosoma vivax* em bovinos leiteiros criados no estado de Pernambuco: relato de caso. *Vet. Zootec.* 18:919-921.
- 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. 2008. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *PesqVet Bras.* 28:63–69.
- Batista J.S., Riet-Correa F., Barbosa R.C. & Guerra J.L. 2006. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26:31-37.
- Batista J.S., Riet-Correa F., Teixeira M.M.G., Madruga C.R., Simões S.D.V. & Maia T.F. 2007. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Vet. Parasitol.* 143:174-181.
- Carvalho A.U., Abrão D.C., Facury Filho E.J., Paes P.R.O. & Ribeiro M.F.B. 2008. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. *Arq. Bras. de Med. Vet.Zootec.* 60:769-771.
- Connor R.J. & Hallwell R.W. 1987. Bovine trypanosomiasis in southern Tanzania: parasitological and serological survey of prevalence. *Trop. Anim. Health Prod.* 19:165-172.
- Corten J.J.F.M., Ter Huurne A.A.H.M., Moorhouse P.D.S. & De Rooij R.C. 1988. Prevalence of trypanosomiasis in cattle in South-West Zambia. *Trop. Anim. Health Prod.* 20:78-84.
- Cortez A.P., Ventura R.M., Rodrigues A.C., Batista J.S., Paiva F., Añez N., Machado R.Z., Gibson W.C & Teixeira M.M.G. 2006. The taxonomic and phylogenetic relationships of *Trypanosoma vivax* from South America and Africa. *Parasitol.* 133:159-169.

- Craig T.M. 1975. A prevalência de parasitos de bovinos em vários ambientes dentro do país várzea tropical da Guiana. PhD Thesis Texas A & M University, Austin, Texas.
- Dávila A.M.R., Herrera H.M., Schlebinger T., Souza S.S. & Traub-Cseko Y.M. 2003. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomosis in the Pantanal, Brazil. *Vet. Parasitol.* 117:1-13.
- Delafosse A., Thébaud E., Desquesnes, M., Desquesnes M. & Michaux Y. 2006. Epidemiology of *Trypanosoma vivax* infection in cattle in the tsetse free area of Lake Chad. *Prev. Vet. Med.* 74:108-119.
- Ezebuio O.G.C., Abenga J.N. & Ekejindu G.O.C. 2009. The prevalence of trypanosome infection in trade cattle, goats and sheep slaughtered at the Kaduna abattoir. *Afr. J. Clin. Exp. Microbiol.* 10:15-25.
- Gardiner P.R. 1989. Gardiner recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. *Adv. Parasitol.* 28:229-317.
- Guedes Junior D.S. 2006. Frequência de anticorpos para agentes da tristeza parasitária bovina, *Trypanosoma vivax* e *Borrelia* sp em bovinos do Nordeste do Estado do Pará, Brasil. Dissertação de Mestrado, Instituto de Veterinária, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
- Guerra R.M.S., Feitosa Jr A.B., Santos H.P., Silva A.L.A. & Santos C.G. 2008. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. *Ciência Rural* 38:833-835.
- IBGE 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <[http://www.censo2010.ibge.gov.br/dados\\_divulgados/index.php?uf=26](http://www.censo2010.ibge.gov.br/dados_divulgados/index.php?uf=26)> Acesso em 27 nov. 2012.
- Jones T.W. & Dávila A.M.R. 2001. *Trypanosoma vivax* out of Africa. *Trends Parasitol.* 17:99-101.
- Linhares G.F.C., Dias Filho F.D., Fernandes P.R. & Duarte S.C. 2006. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins: relato de caso. *Ciênc. Anim. Bras.* 7:455-460.

- Madruga C.R., Araújo F. R., Lima Júnior M.S.C. & Melo E. S. P. 2006. Comparação de métodos de extração do DNA e avaliação de reações da polimerase em cadeia (PCR) para o diagnóstico de *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. Circ. Téc. 34, Embrapa, Brasília, p.1-8.
- Madruga C.R., Morzaria S. & Majiwa P.O. 1999. Caracterização genética do *Trypanosoma vivax* isolado no pantanal do Estado de Mato Grosso e o diagnóstico diferencial da infecção por *Trypanosoma evansi* pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Resultados preliminares. Pesquisa em andamento: Embrapa Gado de Corte 49:1-5. Disponível em <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/pa/pa49.html>> Acessado em 11 fev. 2013.
- Magona J.W., Kakaine D.W. & Mayende J.S.P. 1999. Prevalence and distribution of animal trypanosomosis on Buvuma islands in Lake Victoria, Uganda. Trop. Anim. Health Prod. 31:83-87.
- Mulaw S., Addis M. & Froms A. 2011. Study on the prevalence of major trypanosomes affecting bovine in tsetse infested Asosa District of Benishangul Gumuz Regional State, Western Ethiopia. Global Veterinaria 7:330-336.
- Omotainse S.O., Edeghere H., Omoogum G.A., Elhassan E.O., Thompson G., Igweh C.A., Ukah J.A.C., Ikenga M.A. & Halid, I. 1993. The Prevalence of animal trypanosomosis In Konshishalocal Government area of Benue State, Nigeria. Israel J. Vet. Med. 55:210-220.
- Osório A.L.A.R., Madruga C.R., Desquesnes M., Soares C.O., Ribeiro L.R.R. & Da Costa C.G. 2008. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World: a review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 103:1-13.
- Pimentel D.de S., Ramos C.A. do N., Ramos R.A.N., Araújo F.R., Borba M.L, Faustino M.A.G. & Alves L.C. 2012. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. Vet. Parasitol. 185:286-289.
- Quispe A.P, Chávez V.A., Casas A.E., Trigueros V.A. & Suárez A.F. 2003. Prevalencia de *trypanosoma vivax* en bovinos de la provincia de Coronel Portillo, Ucayali. Revta Invest. Vet. Perú 14:161-165.
- Rodrigues A.C., Neves L., Garcia H.A., Viola L.B., Marcili A., Silva F.M., Sigauque I., Batista J.S., Paiva F. & Teixeira M.M.G. 2008. Phylogenetic analysis of *Trypanosoma vivax* supports the separation of South American/West African from East African isolates



- and a new *T.vivax*-like genotype infecting a nyala antelope from Mozambique. *Parasitol.* 135:1317-1328.
- Seidl A., Dávila A.M.R. & Silva R.A.M.S. 1999. Estimated financial impact of *Trypanosoma vivax* on the Brazilian Pantanal and Bolivian lowlands. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94:269-272.
- Serra-Freire N.M. 1981. Oiapoque: outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. *Revta Bras. Med. Vet.* 4:30-31.
- Silva R.A.M.S., Pellegrin A.O., Ramirez E.S.S.L.L. & Dávila A. M. R. 2004. Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-Grossense e Bolívia. Doc. 75, Embrapa Pantanal, Corumbá, MS, ISSN 1517-1973.
- Silva R.A.M.S., Ramirez L., Souza S.S., Ortiz A.G., Pereira S.R. & Dávila, A.M.R. 1999. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. *Vet. Parasitol.* 85:87-93
- Silva R.A.M.S., Seidl A., Ramirez L. & Dávila A.M.R. 2002. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle. Embrapa Pantanal, Corumbá, MS. 141p. <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/Livro015.pdf>> Acessado em 11 fev. 2013.
- Silva R.A.M.S., Silva J.A., Schneider R.C., Freitas J., Mesquita D., Mesquita T., Ramirez L., Dávila A.M.R. & Pereira M.E.B. 1996. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 91:561-562.
- Sinyangwe L., Delespaux V., Brandt J., Geerts S., Mubanga J., Machila N., Holmes P.H. & Eisler M.C. 2004. Trypanocidal drug resistance in eastern province of Zambia. *Vet. Parasitol.* 119:125-135.
- Smith R.D., Evans D.E., Martins J.R., Ceresér V.H., Correa B.L., Petraccia C., Cardozo H., Solari M.A. & Nari A. 2000. Babesiosis (*Babesia bovis*) Stability in Unstable Environments. *Annals N.Y. Acad. Sci.* 916:510-520.

- Suárez C., García F., Román D., Coronado A., Perrone T., Reyna A. & Parra N. 2009. Factores de riesgo asociados a La tripanosomosis bovina en explotaciones ganaderas de Venezuela. *Zootec. Trop.* 27:363-372.
- Toro E.M. 1976. Diagnostico serológico de La tripanosomiasis bovina usando una prueba de aglutinación capilar. *Vet.Trop.* 1:15-40.
- Ventura R.M., Paiva F., Silva R.A.M.S., Takeda G.F., Buck G.A. & Teixeira M.M.G. 2001. *Trypanosoma vivax*: characterization of the spliced-leader gene for a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic space sequence. *Exp. Parasitol.* 99:37-48.

## **CAPÍTULO 2**

### **USO DA REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) PARA DETECÇÃO DE INFECÇÃO POR *Trypanosoma vivax* EM SANGUE DE BOVINOS<sup>4</sup>**

---

<sup>4</sup> Artigo a ser submetido à Revista Parasitology Research

## Uso da Reação em Cadeia da Polimerase para Detecção de Infecção por *Trypanosoma vivax* em Sangue de Bovinos

Neurisvan Ramos Guerra • Maria Fernanda Melo Monteiro • Hévila Mara Moreira Sandes • Nadine Louise Nicolau da Cruz • Bruno Henrique Leal e Silva Alves • Mateus Matiuzzi da Costa • Leucio Câmara Alves\*<sup>5</sup>

### RESUMO

*Trypanosoma vivax* é um protozoário que infecta muitos animais ungulados selvagens e domésticos causando importantes perdas econômicas na produção animal. Um total de 127 amostras de sangue de bovinos foram coletadas e submetidas ao diagnóstico molecular através da Reação em Cadeia da Polimerase. Das amostras analisadas, 44,88% (57/127) apresentaram amplicons com peso molecular de 659 pb compatíveis com *Trypanosoma vivax*. A PCR demonstrou ser uma boa ferramenta para o diagnóstico da infecção por *T. vivax* em bovinos, sendo importante na detecção de animais infectados independentemente do estado clínico.

**Palavras-chave:** Diagnóstico Molecular, DNA, Protozoário, Tripanossomíase, Infecção, Sangue.

### ABSTRACT

*Trypanosoma vivax* infects a wide range of wild and domestic ungulates, causing important losses on the livestock industry. A total of 127 blood samples from cattle were collected and subjected to molecular diagnosis by polymerase chain. Out of 127 analyzed samples, 44.88% (57/127) presented amplicons with 659 bp compatible with *T. vivax*. The PCR proved to be a good tool for the diagnosis of infection by *T. vivax* in bovines, being important in the detection of infected animals independently of the clinical status.

Key words: Molecular diagnosis, DNA, Protozoan, Tripanosomiasis, Infection, Blood.

### Introdução

---

<sup>5</sup> N. R. Guerra • M. F. M. Monteiro • H. M. M. Sandes • N. L. N. da Cruz • B. H. L. e S. Alves • M. M. da Costa • L. C. Alves

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos  
Recife, Pernambuco, Brasil  
E-mail: leucioalves@gmail.com

*Trypanosoma vivax* é um protozoário que infecta muitos animais ungulados selvagens e domésticos causando importantes perdas econômicas na produção animal. (GARDINER, 1989; JONES e DÁVILA, 2001; SILVA et al, 2004; OSÓRIO et al, 2008).

Muitos métodos de diagnóstico têm sido utilizados para detecção deste parasito em bovinos tais como: técnicas parasitológicas que se baseiam na visualização dos parasitos (SILVA et al., 1999), sorológicas (NANTULYA, 1987), e moleculares os quais se baseiam na detecção de DNA do protozoário (MADRUGA et al., 1999).

Entre essas técnicas, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem demonstrado alta sensibilidade quando comparada aos testes parasitológicos (CLAUSEN et al, 1998) e sorológicos (GARCIA et al, 2006).

Tendo em vista a recente descrição de um surto de tripanossomíase em bovinos no Estado de Pernambuco (PIMENTEL et al., 2012), este trabalho teve como objetivo utilizar a PCR como ferramenta para detecção de DNA de *T. vivax* no sangue destes animais procedentes das diferentes mesorregiões (Litoral, Zona da Mata, Agreste e Sertão).

## **Material e Métodos**

### **Aspectos Éticos**

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 049/2012.

### **Triagem inicial e área de estudo**

Baseado em inquérito sorológico realizado previamente, as cidades de cada mesorregião onde foram encontradas as mais altas frequências de bovinos reagentes para anticorpos IgG anti-*T. vivax* através da Imunofluorescência Indireta (SILVA et al., 2002), foram selecionadas. Sendo assim, foram escolhidas Itamaracá (Litoral), Palmares (Zona da Mata), Bezerros (Agreste) e São José do Belmonte (Sertão).

Um total de 127 amostras de sangue bovino foram coletadas em tubo com anticoagulante (Heparina Vacuette®) para realização de extração de DNA e PCR.

## **Extração de DNA**

Para o diagnóstico molecular, DNA foi extraído a partir de 200µL de sangue utilizando Kit comercial (Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit) segundo as recomendações do fabricante. Todo o material utilizado no procedimento estava estéril a fim de evitar contaminações das amostras

## **Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

A PCR foi realizada de acordo com procedimento descrito por Geysen et al. (2003), onde utilizou-se primers 18STnF2 (5-CAACGATGACACCCATGAATTGGGGA-3) e 18STnR3 (5-TGCGCGACCAATAATTGCAATAC-3), com fragmento delimitado de 659 pb do gene 18S rRNA de isolados brasileiros de *T. vivax* (Madruga et al., 2003).

A amplificação foi realizada em reações de 25µl utilizando-se Kit comercial Top Taq Master Mix (Qiagen). As reações de amplificação foram realizadas nas seguintes condições: 1 ciclo de desnaturação inicial a 94°C por 4 min, seguido por 40 ciclos de desnaturação a 94°C por 60 segundos, anelamento a 58 °C por 90 segundos, extensão a 72°C por 120 segundos. Para execução da eletroforese foram utilizados volumes de 9 microlitros de cada uma das reações adicionadas de 0,5µl de Blue Green (LGC) em gel de agarose a 2% por 30 minutos a 100V. Um marcador molecular de 100 bp (100bp DNA Ladder - LGC Biotecnologia) foi utilizado em cada gel. Após as corridas, os géis foram visibilizados e analisados por meio de um transiluminador ultravioleta acoplado a um computador com *software* de análise de imagens. Como controle positivo foi utilizada amostra de DNA proveniente de sangue de bovinos naturalmente infectados (Pimentel et al., 2012). Como controle negativo foi utilizada água ultra-pura livre de DNase (LGC®).

## **Resultados e Discussão**

Das 127 amostras analisadas, 44,88% (57/127) apresentaram amplicons com peso molecular de 659 pb compatíveis com *Trypanosoma vivax* (tabela 1).

Tabela 1 – Detecção de *Trypanosoma vivax* através da Reação em Cadeia da Polimerase em bovinos das diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco, Brasil

| MESORREGIÕES | POSITIVOS |       | NEGATIVOS |       |
|--------------|-----------|-------|-----------|-------|
|              | N         | %     | N         | %     |
| Litoral      | 8         | 47,06 | 9         | 52,94 |
| Zona da Mata | 22        | 59,46 | 15        | 40,54 |
| Agreste      | 16        | 43,24 | 21        | 56,76 |
| Sertão       | 11        | 30,56 | 25        | 69,44 |
| TOTAL        | 57        | 44,88 | 70        | 55,12 |

A presença de moscas da espécie *Stomoxys calcitrans* foi observada em todas as áreas deste estudo. Estudos anteriores incriminam essas moscas hematófagas como os principais vetores do *T. vivax* nas Américas (OTTE et al, 1994; JONES & DÁVILA, 2001, CARVALHO et al., 2002).

Os resultados aqui obtidos foram semelhantes aqueles encontrados por Salim et al (2011) e Enwezor et al. (2008) que observaram uma melhor especificidade na detecção da infecção por *T. vivax* quando utilizaram o diagnóstico molecular.

O diagnóstico de tripanosomas baseado no DNA combinado com a PCR apresenta alta especificidade e permite detectar pequenas quantidades do parasito nas amostras tais como um parasito/ml de sangue (SILVA et al. 2002) ou até 01pg de DNA de Tripanossoma no hospedeiro (CLAUSEN et al., 1998). Da mesma forma, PCR tem sido capaz de detectar estes protozoários no sangue de bovinos 72-96 horas após administração de drogas (CLAUSEN et al., 1999) sendo, portanto, adequadas para a caracterização de *T. vivax* (DESQUESNES, 2004).

Apesar de sabidamente a PCR apresentar uma sensibilidade maior em relação a outros testes (DESQUESNES, 1997; MASAKE, 1997; BENGALY et al., 2001; GONZÁLES et al., 2006), vários autores relataram a semelhança entre PCR e as técnicas parasitológicas na fase aguda, entretanto, na sua fase crônica, a PCR pode ser de três a quatro vezes mais sensível (DESQUESNES, 1997; CLAUSEN et al., 1998).

Estudos sobre *T. vivax* no Brasil foram pontuais (SILVA et al., 1996; VENTURA et al., 2001; MADRUGA et al., 2006; CORTEZ et al., 2006, BAPTISTA FILHO et al., 2011 sendo proveniente da descrição de surtos (BATISTA et al. 2007; GUERRA et al. 2008; CARVALHO

et al. 2008; PIMENTEL et al. 2012 e CADIOLI et al. 2012) nos estados da Paraíba, Maranhão, Minas Gerais, Pernambuco e São Paulo, respectivamente.

A grande maioria desses estudos foi realizada baseada em técnicas sorológicas ou parasitológicas diretas as quais apresentam problemas de sensibilidade e/ou especificidade ou mesmo em reações cruzadas com outros parasitas do mesmo gênero, especialmente em áreas endêmicas onde ocorrem infecções com *T. evansi* (Araújo et al. 1997), ou até mesmo com *B. bovis* ainda que ocorra em baixos percentuais (MADRUGA et al., 1999) refletindo assim em resultados imprecisos.

No presente trabalho, utilizou-se a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) tendo em vista a sua precisão e confiabilidade (DESQUESNES E DÁVILA, 2002) o que imprime uma maior segurança no diagnóstico do protozoário.

Dessa forma, a PCR permite o diagnóstico seguro de animais cronicamente infectados, os quais abrigam o parasito apresentando baixas parasitemias, não detectáveis em testes parasitológicos diretos. Estes requerem grandes quantidades de parasitos no sangue para que sejam caracterizados, o que dificulta o diagnóstico do *T. vivax* (DIRIE et al., 1993).

Vale salientar ainda que de acordo com Desquesnes et al., (1997) o DNA de do *T. vivax* morto tem curta duração, sendo assim, a detecção de DNA de *T. vivax* aqui observada é um forte indicativo de infecção ativa concordando, assim, com Desquesnes (2004).

## **Conclusão**

A PCR demonstrou ser uma boa ferramenta para o diagnóstico da infecção por *T. vivax* em bovinos, sendo importante na detecção de animais infectados independentemente do estado clínico.



## Referências Bibliográficas

ARAÚJO, F.R.; MADRUGA, C.R.; LEAL, C.R.B.; MASSUDA, T.; SCHENK, M.A. Desenvolvimento de uma prova de imunoadsorção enzimática (ELISA) para detecção de anticorpos contra *Trypanosoma vivax*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 6, n.2. 1997.

BAPTISTA-FILHO, L. C. F.; FERNANDES, A.C.C.; SILVA, T.I.B.; SOUZA, A.C.M.; SANDES, H.M.M. ALVES, L.C.; MELO, L.E.H. INFECÇÃO POR *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS LEITEIROS CRIADOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO: RELATO DE CASO. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.4, Sup. 3, p.919-921: IX Congresso Brasileiro Buiatria. 04 a 07 de Outubro de 2011. Goiânia - Goiás, Brasil. 2011.

BATISTA JS, RIET-CORREA F, TEIXEIRA MMG, MADRUGA CR, SIMÕES SDV, MAIA TF. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v.143, n.2, p.174-181, 2007.

BENGALY, Z.; KASBARI, M.; DESQUESNES, M.; SIDIBE, I. Validation of a polymerase chain reaction assay for monitoring the therapeutic efficacy of diminazene aceturate in trypanosome-infected sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 96, n. 2, p. 101-113, 2001.

CADIOLI, FA; BARNABÉ, PA; MACHADO, RZ; TEIXEIRA, MCA; ANDRÉ, MR; SAMPAIO, PH; FIDÉLIS JUNIOR, OL; TEIXEIRA, MMG; MARQUES, LC. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 118-124, abr.-jun. 2012.

CARVALHO , C. J. B.; MOURA, M. O.; RIBEIRO, P. B. Chave para adultos de dípteros (Muscidae, Fanniidae, Anthomyiidae) associados ao ambiente humano no Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.46, n.2, p.107-114. 2002.

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**, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.

CLAUSEN, P.H., WAISWA, C., KATUNGUKA-RWAKISHAYA, E., SCHARES, G., STEUBER, S., MEHLITZ, D. Polymerase chain reaction and DNA probe hybridization to assess the efficacy of diminazene treatment in *Trypanosoma brucei*-infected cattle. **Parasitology Research**, v.85, n.596, p.206–211, 1999.

CLAUSEN, P.H.; WIEMANN, A.; PATZELT, R.; KAKAIRE, D.; OESTZSCH, C.; PEREGRINE, A.; MEHLITZ, D. Use of a PCR assay for the specific and sensitive detection of *Trypanosoma* spp. in naturally infected dairy cattle in peri-urban Kampala, Uganda. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 29, p. 21–31, 1998.

CORTEZ, A.P.; VENTURA, R.M; RODRIGUES, A. C.; BATISTA, J. S.; PAIVA, F.; AÑEZ, N; MACHADO, R.Z.; GIBSON, W. C.; TEIXEIRA, M.M.G. The taxonomic and phylogenetic relationships of *Trypanosoma vivax* from South America and Africa. **Parasitology**, v.133, n.2, p.159-169, 2006.

DESQUESNES M. Evaluation of a simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosoma vivax* in the serum of cattle in comparison to parasitological techniques and antigen-enzyme linked immunosorbent assay (Ag-ELISA). *Acta tropical.*, v.65, p.139-148,1997.

DESQUESNES, M. Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America. OIE e CIRAD., Paris. 190p. 2004.

DESQUESNES, M.; DÁVILA, A.M.R. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. **Veterinary Parasitology**, v. 109, n.3-4, p. 213–231, 2002.

DIRIE M., MURPHY N.B. & GARDINER P.R. DNA fingerprinting of *Trypanosoma vivax* isolates rapidly identifies intraspecific relationships. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v.40, n.2, p.132-134, 1993.

ENWEZOR, F.N.C.; AUTHIE, E.; BOSSARD, G.; ESIEVO, K.A.N;. UMOH, J.U. Molecular characterization of bovine trypanosomes from the Kachia Grazing Reserve, north-west Nigeria. **Nigerian Journal of Parasitology**, v. 29, n.2 , September pp. 98-102, 2008.

GARCÍA, H.; GARCÍA, M.E.; PÉREZ, G.; BETHENCOURT, A.; ZERPA, É.; PÉREZ, H.; MENDONZA-LEÓN, A. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-

cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 100, n. 4, p. 297-305, 2006.

GARDINER, 1989 P.R. Gardiner Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. **Advances in Parasitology**, v.28, pp. 229–317, 1989.

GEYSEN, D., DELESPAUX, V., GEERTS, S. PCR-RFLP using SSUrDNA amplification as an easy method for species-specific diagnosis of *Trypanosoma* species in cattle. **Veterinary Parasitology**, v.110, n. 3-4, p.171–180, 2003.

GONZALES, J.L.; LOZA, A.; CHACON, E. Sensitivity of different *Trypanosoma vivax* specific primers for the diagnosis of livestock trypanosomosis using different DNA extraction methods. **Veterinary Parasitology**, v. 136,n.2, p. 119–126, 2006.

GUERRA, R.M.S.; FEITOSA JR, A.B.; SANTOS, H.P.; SILVA, A.L.A.; SANTOS, C.G. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. **Ciencia Rural**, v. 38, n.3, p. 833-835, 2008.

JONES, T.W.; DÁVILA, A.M.R. *Trypanosoma vivax* out of Africa. **Trends Parasitology**, v.17, n.1, p.99-101, 2001.

MADRUGA , C.R.; ARAÚJO, F.R.; CRUZ , T.M.; SCHENK, M.A. M. Desenvolvimento de Uma Prova de Imunoabsorção Enzimática para Detecção De Anticorpos Contra *Trypanosoma vivax* em Bovinos: Resultados Preliminares. Embrapa-CNPGC, Campo Grande. Pesquisa em Andamento, Nº 50, junho de 1999, p. 1-3. Embrapa- CNPGC. 1999.

MADRUGA, C.R., ARAÚJO, F.R., SOARES, C.O., MELO, E.S.P., ALMEIDA, D.A., ALMEIDA JUNIOR, N.F., XAVIER, M.A.S., OSÓRIO, A.L.A., GÓES-CAVALCANTE, G., RAMOS, C.A.N. Diagnóstico molecular e análise filogenética de isolados brasileiros de *Trypanosoma vivax* baseado na reação da polimerase em cadeia – PCR. Embrapa Gado de Corte, 5 pp.(Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico, 84), 2003.

MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F. R.; LIMA JÚNIOR, M.S.C.; MELO, E. S. P. Comparação de métodos de extração do DNA e avaliação de reações da polimerase em cadeia (PCR) para o diagnóstico de *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. Circular Técnica 34. Pág. 1-8. Embrapa. 2006.

MADRUGA, C.R.; MORZARIA, S.; MAJIWA, P.O. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DO *Trypanosoma vivax* ISOLADO NO PANTANAL DO ESTADO DE MATO GROSSO E O DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA INFECÇÃO POR *Trypanosoma evansi* PELA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR). PA. Nº 49, abril de 1999, p. 1-5. 1999.

MASAKE, R.A.; MAJIWA, P.A.O.; MOLOO, S.K.; MAKAU, J.M.; NJUGUNA, J.T.; MAINA, M.; KABATA, J.; OLE LOI YOI, O.K.; NANTULYA, V.M. Sensitive and specific detection of *Trypanosoma vivax* using the polymerase chain reaction. **Experimental Parasitology**, v. 85, n.2, p. 193–205, 1997.

NANTULYA, V. M.; MUSOKE, A. J.; RURANGIRWA, F. R.; SAIGAR, N.; MINJA, S. H. Monoclonal antibodies that distinguish *Trypanosoma congolense*, *T. vivax* and *T. brucei*. **Parasite Immunology**. v.9, n.4, pages 421–431, July 1987.

OSÓRIO, A.L.A.R.; MADRUGA, C.R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C.O.; RIBEIRO, L.R.R.; COSTA, C.G. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World- A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n.1, p. 1-13, 2008.

OTTE, M.J., ABUABARA, J.Y., WELLS, E.A. *Trypanosoma vivax* in Colômbia: epidemiology and production losses. **Tropical Animal Health Production**, v.26, p.146–156, 1994.

PIMENTEL, D. DE S.; RAMOS, CARLOS ALBERTO DO NASCIMENTO; RAMOS, R. A. DO N.; ARAÚJO, F. R.; BORBA, M. L.; FAUSTINO, M. A. DA G.; ALVES, L. C. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.185, n.2-4, p. 286–289. 2012.

SALIM, B.; BAKHEIT, M. A.; KAMAU, J.; NAKAMURA, I.; SUGIMOTO, C. **Parasites & Vectors**. Molecular epidemiology of camel trypanosomiasis based on ITS1 rDNA and RoTat 1.2 VSG gene in the Sudan. **Parasites & Vectors**, v.4, n.74, p.1-5, 2011.

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. Doc. 75, Embrapa Pantanal, Corumbá, MS, 2004.

SILVA, R. A. M.; SILVA, J.A.; SCHNEIDER, R. C.; FREITAS, J.; MESQUITA, D.; MESQUITA, T.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, AMR.; PEREIRA, M.E.B. Outbreak of

Trypanosomiasis Due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in Bovines of the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 9, n.5, p. 561-562, Sep./Oct. 1996.

SILVA, R.A.M.S.; RAMIREZ, L.; SOUZA, S.S.; ORTIZ, A.G.; PEREIRA, S.R.; DÁVILA, A.M.R. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Veterinary Parasitology**, v. 85, n.1, p. 87–93, 1999.

SILVA, R.A.M.S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* – Biologia, Diagnóstico e Controle. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Corumbá, Brasil, 140 p. 2002.

VENTURA, R. M.; PAIVA, F.; SILVA, R.A.M.S.; TAKEDA, G.F.; BUCK, G.A. TEIXEIRA, M.M.G. *Trypanosoma vivax*: characterization of the spliced-leader gene for a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic space sequence. **Experimental Parasitology**, v. 99, p. 37-48, 2001.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este estudo identificou a presença do *Trypanosoma vivax* em bovinos nas diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco. Tendo em vista o impacto causado por este parasito na produção animal, bem como os problemas reprodutivos que podem ocorrer, faz-se necessária a inclusão desse protozoário no diagnóstico diferencial com outras enfermidades parasitárias que ocorrem frequentemente no estado.

Por outro lado, o diagnóstico das tripanossomíases em face de dados epidemiológicos e manifestações clínicas sugestivas deve levar em consideração, além das características de sensibilidade e especificidade da técnica utilizada, sua adequação a diferentes fases da doença.

Além disso, a presença de anticorpos para *T. vivax* observada indica instabilidade enzoótica desse agente no estado de Pernambuco o que sugere a possibilidade da ocorrência de surtos de tripanossomíase bovina.

## **6 CONCLUSÕES**

A frequência aqui reportada sugere que o estado de Pernambuco é área endêmica para *Trypanosoma vivax* apresentando-se como área de instabilidade enzoótica.

A PCR demonstrou ser uma boa ferramenta para o diagnóstico da infecção por *T. vivax* em bovinos, sendo importante na detecção de animais infectados independentemente do estado clínico.