

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS JABOTICABAL

**AUSÊNCIA DE ANTICORPOS EM EQUÍDEOS EXPOSTOS A
REBANHOS BOVINOS INFECTADOS POR *Trypanosoma*
*vivax***

Stéffany Oliveira Barbosa

Médica Veterinária

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS JABOTICABAL**

**AUSÊNCIA DE ANTICORPOS EM EQUÍDEOS EXPOSTOS A
REBANHOS BOVINOS INFECTADOS POR *Trypanosoma
vivax***

Stéffany Oliveira Barbosa

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Antonio Cadioli

Dissertação de mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre
em Ciências Veterinárias (Clínica Médica
Veterinária)

B238a

Barbosa, Stéffany Oliveira

Ausência de anticorpos em equídeos expostos a rebanhos bovinos infectados por *Trypanosoma vivax* / Stéffany Oliveira Barbosa. -- Jaboticabal, 2021

37 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Fabiano Antonio Cadioli

1. Clínica Médica Veterinária. 2. Doenças de Grandes Animais. 3. Diagnóstico Sorológico. 4. Tripanossomose. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AUSÊNCIA DE ANTICORPOS EM EQUÍDEOS EXPOSTOS A REBANHOS BOVINOS INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*

AUTORA: STÉFFANY OLIVEIRA BARBOSA

ORIENTADOR: FABIANO ANTONIO CADIOLI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba / UNESP

Profa. Dra. DANIELA BERNADETE ROZZA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FMVA / UNESP - Araçatuba

Prof. Dr. WELBER DANIEL ZANETTI LOPES (Participação Virtual)
Faculdade de Medicina Veterinária / Universidade Federal de Goiás - Jataí/GO

Jaboticabal, 12 de julho de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Stéffany Oliveira Barbosa – nascida em Contagem, Minas Gerais, em 17 de fevereiro de 1993. Iniciou e concluiu o curso de graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG (2011-2016). Ingressou em 2017 no Programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária, na área de concentração Clínica Médica de Grandes Animais na Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba – FMVA/UNESP, campus de Araçatuba (2017 - 2019). Em 2019 iniciou o mestrado acadêmico na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sabedoria para chegar até aqui.

Aos meus pais Francisco Aguiar Barbosa e Maria Aparecida de Oliveira Barbosa e também à minha irmã Ingrid Oliveira Barbosa pelo amor e apoio incondicionais.

À Ana Clara Oliveira Pelaes, Mayumi Fernanda Aracati e Giovanna Sinigalia Leme Nogueira pela amizade e parceria em todos os momentos da vida, mas especialmente nessa trajetória.

Ao Rafael Albertini Belentani por todo amor e cuidado que me serviram de base quando mais precisei e ao incentivo constante.

Ao meu orientador Fabiano Antonio Cadioli pela oportunidade e direcionamento em todas as atividades e aos inomináveis colegas do grupo pela parceria durante esses dois anos do curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias por terem me acolhido para a realização do curso de Mestrado Acadêmico.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
3. REFERÊNCIAS	11
CAPÍTULO 2.....	20
ABSENCE OF ANTIBODIES AGAINST EQUIDEA EXPOSED TO INFECTED CATTLE BY <i>Trypanosoma vivax</i>.....	20
1. INTRODUCTION	20
2. MATERIALS AND METHODS	21
2.1 ANIMALS AND GROUPS.....	21
2.2 SAMPLES.....	21
2.3 SEROLOGY	22
3. RESULTS AND DISCUSSION	22
4. CONCLUSION	25
5. REFERENCES.....	25

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Prevalência de *Trypanosoma vivax* em equídeos adultos**", protocolo nº 08161/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fabiano Antonio Cadioli, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de julho de 2019.

Vigência do Projeto	01/06/2019 a 30/03/2021
Espécie / Linhagem	Equinos, asininos e muaras
Nº de animais	400
Peso / Idade	Adultos
Sexo	Macho e fêmea
Origem	Fazendas em MG, SP, PR e GO

Jaboticabal, 04 de julho de 2019.


Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

AUSÊNCIA DE ANTICORPOS EM EQUÍDEOS EXPOSTOS A REBANHOS BOVINOS INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*

RESUMO - *Trypanosoma vivax* é hemoprotozoário que acomete especialmente os animais ungulados silvestres e domésticos. Diversos relatos comprovam a ocorrência deste parasita em equídeos na África, sendo os equinos mais susceptíveis que os asininos. Entretanto, o Brasil, mesmo sendo endêmico para a doença em bovinos, existem raros diagnósticos de *T. vivax* em equídeos. Esse trabalho objetivou verificar a presença de anticorpos anti-*T. vivax* em equídeos em contato direto com rebanhos bovinos positivos para *T. vivax* nos estados de MG, SP e CE. Foram testados 154 equídeos para *T. vivax* através do método de RIFI. Dentre esses, 32 animais apresentaram alterações clínicas, como: ataxia, lesões hepáticas e distúrbios reprodutivos. Esses equídeos sintomáticos também foram submetidos a sorologia para *T. gondii*, *N. caninum*, *T. evansi*, *T. equi* e *B. caballi*, sendo *T. gondii* o agente de maior ocorrência. A ausência de resultados positivos para *T. vivax* indica que equídeos possam ser refratários a esse agente representando uma importância questionável na cadeia epidemiológica da tripanossomose bovina no Brasil.

Palavras-chave: diagnóstico sorológico, equino, jumento, RIFI, tripanossomose animal.

ABSENCE OF ANTIBODIES AGAINST EQUIDEA EXPOSED TO INFECTED CATTLE BY *Trypanosoma vivax*

ABSTRACT – *Trypanosoma vivax* is a hemoprotozoan that especially infects wild and domestic ungulate animals. Several reports prove this parasite's occurrence in equids in Africa, but horses more susceptible than donkeys. Although Brazil is endemic for *T. vivax* cattle disease, there are rare *T. vivax* diagnoses in equidea. This study aimed to verify the presence of anti-*T. vivax* antibodies in equines living in direct contact with cattle *T. vivax* positive in MG, SP and CE states. 154 horses were tested for *T. vivax* using RIFI method. Among these, 32 animals were symptomatic, such as: ataxia, liver injury and reproductive disorders. These symptomatic equidae were also subjected to serology exams for *T. gondii*, *N. caninum*, *T. evansi*, *T. equi* and *B. caballi*, and *T. gondii* had been the most frequent agent. The absence of *T. vivax* positive results indicates equidae may be refractory to this agent, representing a questionable importance in epidemiology bovine trypanosomiasis in Brazil.

Keywords: animal trypanosomosis, IFAT, horse, serological diagnosis

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O *Trypanosoma vivax* é um protozoário flagelado capaz de infectar uma grande variedade de animais ungulados domésticos e silvestres, sendo transmitido através de moscas hematófagas e de meios iatrogênicos (Bastos et al., 2017).

Mesmo infectando outros animais, o *T. vivax* tem impacto mais expressivo na bovinocultura de leite, onde provoca consideráveis perdas econômicas com elevada morbidade e mortalidade do rebanho (Vieira et al., 2017).

No Brasil, o parasita já foi diagnosticado diversas vezes em bovinos, caprinos e ovinos, mas em equídeos existe relato apenas no Rio Grande do Sul e região do Semiárido Brasileiro (Da Silva et al., 2011; Rodrigues et al., 2015; Lopes et al., 2018). O diagnóstico das tripanossomoses em equinos é laborioso em razão dos sintomas inespecíficos. Além disso, em geral esses animais apresentam baixa parasitemia, dificultando o diagnóstico até mesmo pelas técnicas moleculares e sorológicas, necessitando a combinação de diversos métodos diagnósticos associados à investigação epidemiológica (Büscher et al., 2019).

Na África, é frequente a infecção de equinos por *T. vivax*. A ocorrência de infecções subclínicas sugerem que os equídeos assintomáticos, assim como os caprinos, atuam como reservatórios domésticos do parasita facilitando a difusão do mesmo (Dhollander et al., 2006; Pinchbeck et al., 2008; Dagnachew e Bezie, 2015).

A ocorrência de *T. vivax* frequentemente está associada a infecções por outras espécies do gênero (Dhollander et al., 2006), podendo também estar em coinfeção com outros hemoparasitas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Tripanossomoses são enfermidades cosmopolitas causadas por protozoários do gênero *Trypanosoma*, que acometem humanos, animais domésticos e silvestres. Tripanossomas capazes de infectar mamíferos são subdivididos em duas seções: Stercoraria que compreende *T. cruzi*, *T. theileri* e *T. melophagium* e Salivaria, *T. vivax*, *T. congolense* e *T. brucei* (Hoare, 1972; Dagnachew e Bezie, 2015).

T. vivax é originário da África, onde acarreta grandes problemas na pecuária (Angwech et al., 2015). Na América Latina, a doença foi introduzida através da importação de gado e equinos provenientes do continente africano, provavelmente no século XVI, se espalhando por vários países incluindo o Brasil (Fetene et al., 2020). No Brasil, *T. vivax* foi inicialmente diagnosticado no estado do Pará por Shaw e Lainson (1972) e, desde então, a doença vem se espalhando por todo o território nacional (Silva et al., 1996; Paiva et al., 2000; Linhares et al., 2006; Batista et al., 2007; Carvalho et al., 2008; Guerra et al., 2008; Da Silva et al., 2009; Cadioli et al., 2012; Pimentel et al., 2012; Andrade Neto et al., 2015; Fávero et al., 2016; Bastos et al., 2017; Vieira et al., 2017; Lopes et al., 2018;).

O principal vetor biológico do *T. vivax* na África são moscas *Glossina* spp, nas quais o parasita tem a capacidade de completar o seu ciclo biológico, ocorrendo a transmissão cíclica (Gonzatti et al., 2014; Suh et al., 2017). Já no continente americano o parasita se adaptou à transmissão mecânica por dípteros hematófagos como *Haematobia irritans*, *Stomoxys* sp. e *Tabanus* sp. (Cadioli et al., 2012; Dagnachew et al., 2015). Além dessa adaptação, fatores como transmissão iatrogênica e o trânsito de animais contribuem para o aumento da ocorrência da doença no Brasil (Bastos et al., 2017).

Existem diversos hospedeiros possíveis para o *T. vivax*, na África búfalos e antílopes são considerados reservatórios do parasita, papel que pode ser desempenhado por equídeos assintomáticos nas regiões endêmicas africanas (Moloo et al., 1999; Njiokou et al., 2004; Dhollander et al., 2006; Pinchbeck et al., 2008).

Ainda no continente africano, acredita-se que a alta ocorrência de infecção subclínica de *T. vivax* sugere que equídeos e caprinos assintomáticos sirvam como fontes domésticas abundantes deste parasita e que favorecem a difusão de *T. vivax*

na África (Desquesnes, 2004; Dhollander et al., 2006; Pinchbeck et al., 2008; Dagnachew e Bezie, 2015). Na África é frequente a infecção de equinos por *T. vivax*, podendo estar associada a infecções por outras espécies do gênero, como *T. congolense*, *T. evansi* e *T. brucei*. Equinos são particularmente susceptíveis a infecção por *T. evansi*, mas infecções graves por *T. congolense*, *T. brucei*, e *T. vivax* são raramente descritas.

Em equídeos as infecções por *T. vivax* são caracterizadas por baixa parasitemia, anemia progressiva, perda de peso e fraqueza, sendo de curso crônico, diferindo da infecção por *T. evansi* que causa doença aguda com morte súbita dos animais (Da Silva et al., 2011; Dagnachew e Bezie, 2015).

Jumentos africanos infectados por *T. vivax* apresentam uma forma muito discreta da doença, sendo na maioria das vezes não percebida clinicamente (Kaggwa et al., 1988). Rodrigues et al. (2015) investigaram o papel de jumentos errantes nos surtos de tripanossomíase em bovinos leiteiros e ovinos na região do Semárido Brasileiro. Pela primeira vez no Brasil, *T. vivax* foi detectado em jumentos e todos apresentaram parasitemia detectável por Polymerase Chain Reaction (PCR) e alterações hematológicas. Em infecção experimental, a parasitemia foi exclusivamente detectável por PCR, corroborando a tolerância de jumentos ao *T. vivax*, como mostrado na África, e sugere que os mesmos podem agir como portadores saudáveis, servindo como fonte de *T. vivax* para animais susceptíveis. Portanto, a detecção de anticorpos são viáveis e podem fornecer, indiretamente, evidências de uma infecção. Para a detecção de *T. vivax* a OIE recomenda os exames de RIFI e ELISA (Aregawi et al., 2019).

Métodos moleculares como PCR (Cortez et al., 2009) e PCR em tempo real (Silbermayr et al., 2013) são ótimos indicadores da presença do DNA de *T. vivax* no sangue dos animais. A Amplificação Circular Isotérmica do DNA (LAMP) tem sido considerada técnica menos susceptível à presença de inibidores nas amostras sanguíneas do que a PCR convencional (Kaneko et al., 2007; Nimitphak et al., 2008; Grab et al., 2011), além de ser um teste de execução simples, rápido (Notomi et al., 2000). O uso de tais ferramentas permite uma análise mais profunda dos fatores epidemiológicos da infecção por *T. vivax*, permitindo a detecção de infecções

subclínicas e, portanto, um quadro mais abrangente da dinâmica das populações de parasitas no hospedeiro (Pinchbeck et al., 2008).

Entretanto, do ponto de vista clínico, outras infecções por protozoários devem ser consideradas no diagnóstico diferencial de infecções por *T. vivax* em equídeos como *T. evansi*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Theileria equi* e *Babesia caballi*.

O *Trypanosoma evansi* é um hemoprotozoário extracelular que acomete animais domésticos e silvestres em várias partes do mundo e causa a doença conhecida como 'surra', na África e Ásia, e "mal das cadeiras" nas Américas Central e do Sul, de alta prevalência em vários países de clima tropical e subtropical, sendo considerada endêmica em vários deles, mas também há relatos na Europa (Yadav et al., 2019). A surra gera grandes perdas econômicas nos sistemas de produção animal, desde a queda na produção de leite, abortos, infertilidade até a morte (Büscher et al., 2019; Yadav et al., 2019). O principal meio de transmissão se dá por hematófagos, principalmente por morcegos e moscas, como *Stomoxys sp.* e *Tabanus sp.* Também é descrita a transmissão por via oral, através da ingestão de carne e carcaça contaminadas (Büscher et al., 2019).

O diagnóstico das tripanossomoses em equinos pode ser difícil visto que os sinais clínicos da doença são muito inespecíficos e a parasitemia é baixa, sendo um desafio até com técnicas moleculares e sorológicas. Portanto, é necessário associar vários métodos diagnósticos com uma boa investigação epidemiológica para conseguir detectar a doença. Segundo a OIE, o teste diagnóstico recomendado para *T. evansi* é a Imunofluorescência Indireta (Büscher et al., 2019). Além disso, outros protozoários podem causar sintomas semelhantes aos da tripanosomose em equinos e devem ser considerados no diagnóstico diferencial.

Toxoplasma gondii é protozoário intracelular capaz de acometer qualquer animal homeotérmico, sendo o gato doméstico o hospedeiro definitivo (Guerra et al., 2018); além disso, apresenta um ciclo biológico complexo, sendo a fase sexuada no intestino do hospedeiro definitivo. Nessa fase há liberação de oocistos esporulados pelas fezes e contaminação do ambiente. Os hospedeiros intermediários ingerem esses oocistos e ocorre a liberação dos esporozoítos durante a passagem pelo trato digestivo. É nessa forma que o parasita se dirige aos linfonodos e inicia sua replicação

sob forma de taquizoítos e, que posteriormente ganham a circulação e finalmente infectam diversos tecidos, especialmente no sistema nervoso central, músculo esquelético e músculo cardíaco. Esse período representa a fase aguda da infecção (Dubey, 1988). A fase crônica da doença, considerada assintomática, é caracterizada pela formação de cistos de bradizoítos nos tecidos infectados. Esses cistos são imunologicamente inertes e mantêm-se como forma infectante mesmo após a morte do hospedeiro, permitindo que a transmissão ocorra atrás da ingestão desses tecidos contaminados. A formação dos cistos representa a fase final do ciclo no hospedeiro intermediário (Sherding, 1998; Tenter et al., 2000).

Dentre as espécies domésticas, os equinos são os hospedeiros intermediários mais resistentes à infecção por *T. gondii*. Esses animais, por serem herbívoros, se infectam a partir de alimentos contaminados (pastagem, feno, rações etc.) mas em geral são assintomáticos. Nesses casos o que se observa é uma alta titulação de anticorpos e a presença de cistos nos tecidos. Entretanto, algumas infecções podem levar a um quadro de encefalite e apresentar sinais como hiperirritabilidade, incoordenação, desordens oculares e aborto. Existe a possibilidade de transmissão via transplacentária, mas os estudos realizados com infecção experimental não conseguiram provar isso (Marques et al., 1995).

A prevalência do *T. gondii* apresenta-se bastante variável. Estudos no mundo todo mostram que, através de testes sorológicos para detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*, 0 a 90% dos equídeos são identificados como sororreagentes. Essa variação dos resultados é decorrente tanto do teste utilizado quanto do local onde foi realizado o estudo (Dubey et al. 2014). Especificamente no Brasil, a prevalência apontada pelos estudos sorológicos varia entre 0% e 70% (Guerra et al., 2018).

O diagnóstico clínico da toxoplasmose é bastante limitado em virtude da inespecificidade dos sintomas. Para se ter um diagnóstico definitivo torna-se necessário testes laboratoriais, desde a utilização de provas biológicas, histopatológicas, testes sorológicos ou a combinação destes. Em equinos, usualmente utiliza-se dos testes sorológicos para a detecção de anticorpos. No Brasil, o teste mais empregado é a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) mas em outras países o Teste de Aglutinação Modificado é o método mais usual (Dubey et al., 1999; Locatelli-Dittrich et al., 2006).

A biologia molecular também pode ser utilizada com fins diagnóstico. Métodos como PCR auxiliam na interpretação da condição real de interação parasito/hospedeiro. Tais métodos são uma alternativa às técnicas sorológicas, as quais apresentam alta sensibilidade e podem mascarar o diagnóstico pela presença de IgM residuais no soro. Mas ainda assim os testes moleculares são pouco utilizados para diagnóstico de toxoplasmose em equinos e demandam estudos (Kompalic-Cristo et al., 2005).

Neospora spp. é um protozoário intracelular obrigatório capaz de infectar uma ampla variedade de hospedeiros. Esse parasita possui distribuição global e está estreitamente relacionado com *T. gondii* e *Sarcocystis* spp. (Anderson et al, 2000; Dubey, 2003;). Existem duas espécies conhecidas, *N. caninum* e *N. hughesi*, sendo que ainda pouco se sabe sobre essa última. Já o *N. caninum* é relatado em várias espécies animais, especialmente em cães, hospedeiros definitivos (Hoane et al., 2006).

Embora animais domésticos e selvagens possam ser expostos ao *N. caninum*, só foi possível o isolamento viável desse parasita em bovinos, ovinos, bubalinos, bisões, veados de cauda branca, cães e equinos (Dubey et al., 2007).

O *N. caninum* foi caracterizado pela primeira vez em 1988, associado a uma síndrome neurológica em cães. Em 1996, Marsh et al. isolou pela primeira vez o *Neospora* sp. a partir de tecidos de um cavalo, mas o parasita isolado era diferente do *N. caninum*, a nível estrutural e molecular. Sendo assim, em 1998, tal isolado foi caracterizado e nomeado como uma nova espécie, o *N. hughesi* (Marsh et al., 1998).

A semelhança entre os gêneros *Neospora* e *Toxoplasma* dá tanto pela morfologia quanto pelo ciclo. Assim como o *T. gondii*, acredita-se que os canídeos se infectam com *N. caninum* por carnivorismo, através da ingestão dos cistos teciduais repletos de bradizoítos. São nesses animais que o ciclo biológico se completa com a fase intra-epitelial e a reprodução sexual do parasito. Apesar das fases esquizogônicas e gametogênicas ainda não serem bem elucidadas, acredita-se que elas existam por preceder a formação de oocistos nos intestinos de cães. Os oocistos são eliminados no ambiente pelas fezes e ingeridos posteriormente por um hospedeiro intermediário, onde ocorrerá a fase assexuada originando os taquizoítos. É sob essa

forma que o *Neospora infecta* os tecidos do hospedeiro e forma cistos a fim de burlar o sistema imunológico do mesmo (Dubey et al., 2007).

Diversas células podem ser infectadas, mas há predileção pelas neurais, vasculares, musculares, endoteliais, hepáticas, macrófagos e fibroblastos. Entretanto, encontramos os cistos em maior quantidade nos tecidos neural e músculo-esquelético (Barr, 1993; Hill e Dubey, 2002).

Os herbívoros se infectam por meio de água e alimentos contaminados com oocistos esporulados. A ecologia do *Neospora spp.* em equinos ainda não está completamente esclarecida, mas sabe-se que a infecção por *N. caninum* causa problemas reprodutivos e doença neonatal enquanto a infecção por *N. hughesi* afeta o sistema neurológico (Pusterla et al., 2011; Villalobos et al., 2005; Lindsay, 2001; Kligler et al., 2007; Veronesi et al., 2008).

A transmissão vertical, via transplacentária, também pode ocorrer, mas tem maior importância em bovinos (Hietala e Thurmond, 1999; Dubey et al., 2007). Em equinos, essa via de transmissão só foi comprovada nas infecções por *N. hughesi* (Dubey; Porterfield, 1990; Toscan et al., 2010; Pusterla et al., 2011). Sabe-se que a presença de anticorpos anti-*Neospora spp.* em soro de equinos adultos está relacionada com o histórico de perda fetal em rebanhos equinos no estado de São Paulo, já que esse parasita tem participação importante no desenvolvimento de distúrbios (Villalobos et al., 2006).

Clinicamente, os equinos não possuem sintomas específicos, o que dificulta o diagnóstico. Deste modo, os métodos sorológicos e parasitológicos são necessários para a confirmação. Dentre os testes sorológicos são utilizados: RIFI, ELISA, Soroaglutinação Direta e Western blot e, dentre os testes parasitológicos estão os exames histopatológicos, imunohistoquímicos, isolamento *in vitro* e *in vivo* e a detecção do DNA do parasita por PCR (Hemphill, & Gottstein, 2000; Hoane et al., 2006).

A prevalência de *Neospora spp.* em equinos é bastante variada e há uma significativa escassez de dados sobre a infecção (Hoane et al., 2006; Locatelli-Dittrich et al., 2006; Villalobos et al., 2006). Nas Américas, países como Estados Unidos, Argentina, Chile e Costa Rica realizaram levantamentos sobre a soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora spp.* em equinos, sendo que na Argentina não foram

encontrados animais soropositivos (Dubey et al., 1999). No Chile, a soroprevalência foi de 32% em equinos com sintomatologia nervosa e/ou abortos (Patitucci et al., 2004).

No Brasil, foi encontrada a prevalência de *Neospora spp.* de 2,5%, obtida a partir da análise de amostras de soro equino provenientes de 10 estados (Hoane et al., 2006). Em São Paulo observou-se uma frequência de 10,3% de anticorpos anti-*Neospora caninum* em amostras de equinos adultos de diferentes municípios do estado (Vilalobos et al., 2006). No Paraná, a soroprevalência foi de 30 a 47% observada em matrizes equinas e 22,2% em potros pré-colostragem (Locatelli-Dittrich et al., 2006). Já no Rio Grande do Sul, a frequência foi de 13,8% em uma população de fêmeas da raça Crioula em idade reprodutiva (Toscan et al., 2010). A soroprevalência pode variar em função do manejo, localização geográfica das propriedades e exposição ao parasito (Locatelli-Dittrich et al., 2006).

Theileria equi é um hemoprotozoário da ordem Piroplasmida, a qual é dividida em duas famílias: Babesiidae e Theileriidae. *T. equi* juntamente com a *Babesia caballi*, são responsáveis pela ocorrência da Piroplasmose Equina (Mans et al., 2015).

Os piroplasmas estão distribuídos mundialmente e infectam uma gama enorme de animais, tanto domésticos quanto silvestres, sendo transmitida por carrapatos da família Ixodidae (*Amblyomma*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* and *Rhipicephalus*) (Mans et al., 2015; Ferreira et al., 2016).

Apenas em 1998, Mehlhorn e Schein (1998) alteraram a taxonomia da *T. equi*, deixando de ser classificada como *Babesia equi*. Tal alteração se deve as diferenças (tamanho, forma, método de multiplicação e resistência aos medicamentos) quando comparada à *B. caballi*.

Nos equídeos, a infecção inicia através da inoculação da *T. equi* na corrente sanguínea, sob a forma de esporozoíto, durante o repasto sanguíneo de carrapatos infectados. Os esporozoítos invadem primeiramente os linfócitos do hospedeiro e evoluem para o estágio de merozoítos que, posteriormente, invadem os eritrócitos. A partir daí, inicia-se o ciclo de reprodução assexuada ininterrupto mesmo com uma resposta imunológica rápida e intensa contra o agente (Radostits et al., 2006).

A infecção por *T. equi* tem sintomatologia variável de acordo com a região geográfica, mas em geral os sinais clínicos são mais severos quando comparado à *B.*

caballi. Além disso, uma vez infectados, os equinos tornam-se portadores mesmo após a recuperação da doença (Onyiche et al., 2020).

A transmissão da *T. equi* ocorre comumente através de vetores, entretanto ela também pode se dar por via iatrogênica e transplacentária. Essa última, pode levar a infecção de até 30% dos potros (Nantes e Zappa, 2008).

A Piroplasmose Equina tem maior incidência nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, Ásia, África e Sudeste da Europa. Estima-se que apenas 10% da população de equinos no mundo vivem em áreas livres e aproximadamente 120 milhões de cavalos no mundo são infectados e vivem em áreas endêmicas (Uilenberg, 2006).

No Brasil, o clima tropical favorece a ocorrência de carrapatos e conseqüentemente da Piroplasmose Equina. Desse modo, acredita-se que grande parte dos equinos estão ou já foram expostos aos parasitas e são soropositivos, apesar de, em geral, não apresentarem a forma clínica da doença, sendo apenas portadores assintomáticos da *T. equi*. Em muitas regiões do país, essa enfermidade é considerada como “estabilidade enzoótica”, podendo apresentar até 96% de prevalência. Contudo, áreas mais ao Sul do país, onde há menor ocorrência de carrapatos, a transmissibilidade do protozoário é menor e a soropositividade dos equinos é de aproximadamente 30% (Heim et al., 2007; Golynski et al., 2008).

O diagnóstico pode ser feito de diversas maneiras. O modo presuntivo consiste basicamente na observação dos sinais clínicos característicos da doença e avaliações hematológicas. Em geral, observa-se um quadro febril, com prostração e icterícia, condizentes com uma redução no volume de eritrócitos. Entretanto, para se obter o diagnóstico definitivo são necessários exames laboratoriais mais específicos como a microscopia direta (visualização dos protozoários em esfregaços sanguíneos), a identificação do DNA do agente (PCR) ou mensuração das respostas imunológicas (RIFI ou ELISA) (Battsetseg, 2002).

Dentre os métodos diagnósticos preconizados, a sorologia através do ELISA é o padrão ouro. Essa técnica permite a detecção de IgG, imunoglobulina específica e duradoura contra antígeno. Assim, mesmo o animal sendo um portador assintomático, o título de anticorpos do tipo IgG permanecem presentes na circulação ao longo da

vida, tornando possível o diagnóstico tanto na fase aguda quanto na fase latente da doença (Ikadai, 2002).

Como descrito anteriormente, a *Babesia caballi* é um protozoário também causador da Piroplasmose Equina, caracterizada pela presença de febre, inapetência, anemia, perda de peso e intolerância ao exercício.

Mesmo após a recuperação, equídeos previamente infectados se tornam portadores assintomáticos do parasita, servindo como fonte de contaminação para outros animais através da transmissão indireta, a qual ocorre mediante a picada de carrapatos ou fômites (Terkawi et al., 2012).

Após inoculada na corrente sanguínea, a *B. caballi* parasita as hemácias do hospedeiro, podendo gerar quadros de febre persistente, anemia e icterícia. Diferente de outras babesioses, nesses casos não é comum a hemoglobinúria (Ramirez Gutierrez, 2007).

A *B. caballi*, quando comparada a outras Babesias, é a menos patogênica e a que gera manifestações clínicas mais sutis, as quais variam conforme o curso e severidade da doença (Ramirez Gutierrez, 2007).

O diagnóstico é relativamente simples, podendo ser feito através de esfregaço sanguíneo, métodos imunológicos/sorológicos e biologia molecular (Ramirez Gutierrez, 2007).

Como se vê, até recentemente, a técnica laboratorial mais utilizada para detecção da infecção por hemoparasitos era a visualização microscópica dos parasitos em esfregaços sanguíneos corados. Devido à baixa sensibilidade deste método, testes imunológicos indiretos e métodos diretos, como o PCR, tem sido incorporados com sucesso na rotina de laboratórios veterinários (Maroso et al., 2002, Golynski et al. 2008; Salvagni et al., 2010; Leal et al., 2011; Abedi et al., 2014; Laus et al., 2015; Malekifard et al., 2014; Posada-Guazmán et al., 2015; Sgorbini et al., 2015). Provas sorológicas, como a RIFI e o ELISA acusam se o animal teve contato com o agente em alguma fase da vida, mas não necessariamente estes estariam doentes, podendo ou não estar com o agente no seu organismo no momento da colheita, induzindo a ativação do sistema imunológico (Parra, 2009; Abedi et al., 2014; Laus et al., 2015; Sgorbini et al., 2015).

3. REFERÊNCIAS

- ABEDI, V., RAZMI, G., SEIFI, H., & NAGHIBI, A. Molecular and serological detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection in horses and ixodid ticks in Iran. **Ticks and tick-borne diseases**, v.5, n. 3, p. 239-244, 2014.
- ANDERSON, M.L.; ANDRIANARIVO, A.G.; CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.60–61, p.417–431, 2000.
- ANDRADE NETO, A. Q. A., AFONSO, J. A. B., MENDONÇA, C. L., SOUTO, R. J. C., ANDRÉ, M. R., & MACHADO, R. Z. Surtos de tripanossomíase em bovinos leiteiros no agreste dos estados de Pernambuco e Alagoas. **Biológico**, supl 2, v. 1, n. 77, p. 143, 2015.
- ANGWECH, H., NYEKO, J. H., OPIYO, E. A., OKELLO-ONEN, J., OPIRO, R., ECHODU, R. & SKILTON, R. A Heterogeneity in the prevalence and intensity of bovine trypanosomiasis in the districts of Amuru and Nwoya, Northern Uganda. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2015. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0567-6>
- AREGAWI, W. G., AGGA, G. E., ABDI, R. D. & BÜSCHER, P. Systematic review and meta-analysis on the global distribution, host range, and prevalence of *Trypanosoma evansi*. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-25, 2019. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3311-4>
- BASTOS, T. S. A., FARIA, A. M., MADRID, D. M. D. C., BESSA, L. C. D., LINHARES, G. F. C., FIDELIS JUNIOR, O. L. & LOPES, W. D. Z. First outbreak and subsequent cases of *Trypanosoma vivax* in the state of Goiás, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 26, n. 3, p. 366-371, 2017. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612017019>.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.017>
- BATTSETSEG, B., LUCERO, S., XUAN, X., CLAVERIA, F. G., INOUE, N., ALHASSAN, A., & FUJISAKI, K. Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Brazilian horses using nested polymerase chain reaction. **Veterinary Parasitology**. Mato Grosso, v. 107, p. 351-357, 2002.
- BÜSCHER, P., GONZATTI, M. I., HÉBERT, L., INOUE, N., PASCUCCI, I., SCHNAUFER, A., & VAN REET, N. Equine trypanosomosis: enigmas and diagnostic challenges. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2019. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3484-x>
- CADIOLI, F. A., BARNABÉ, P. D. A., MACHADO, R. Z., TEIXEIRA, M. C. A., ANDRÉ, M. R., SAMPAIO, P. H., ... & MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax*

outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 21, n. 2, p. 118-124, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000200009>

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. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000300037>

CORTEZ, A. P., RODRIGUES, A. C., GARCIA, H. A., NEVES, L., BATISTA, J. S., BENGALY, Z., & TEIXEIRA, M. M. Cathepsin L-like genes of *Trypanosoma vivax* from Africa and south America – characterization, relationships and diagnostic implications. **Molecular and Cellular Probes**, London, v. 23, n. 1, p. 44-51, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2008.11.003>

DA SILVA, A. S., PEREZ, H. A. G., COSTA, M. M., FRANÇA, R. T., DE GASPERI, D., ZANETTE, R. A. & MONTEIRO, S. G. Horses naturally infected by *Trypanosoma vivax* in southern Brazil. **Parasitol. Res.**, v. 108, n. 1, p. 23-30, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2036-2>

DA SILVA, A. S. D., COSTA, M. M., POLENZ, M. F., POLENZ, C. H., TEIXEIRA, M. M. G., LOPES, S. T. D. A., & MONTEIRO, S. G. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Cienc. Rural**, v. 39, n. 8, p. 2550-2554, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000189>

DAGNACHEW, S. & BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. *Afr J Basic Appl Sci*, v. 7, n. 1, p. 41-64, 2015. <http://dx.doi.org/10.5829/idosi.ajbas.2015.7.1.92116>

DAGNACHEW, S., TEREFE, G., ABEBE, G., BARRY, D., MCCULLOCH, R., & GODDEERIS, B. In vivo experimental drug resistance study in *Trypanosoma vivax* isolates from tsetse infested and non-tsetse infested areas of Northwest Ethiopia. **Acta tropica**, v. 146, p. 95-100, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.03.014>

DESQUESNES M. **Livestock Trypanosomoses and their Vectors in Latin America**. Paris: OIE & CIRAD; 190p, 2004.

DHOLLANDER, S., JALLOW, A., MBODGE, K., KORA, S., SANNEH, M., GAYE, M., & GEERTS, S. Equine trypanosomosis in the Central River Division of The Gambia: a study of veterinary gate-clinic consultation records. **Preventive veterinary medicine**, v. 75, n. 3-4, p. 152-162, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.11.009>

DUBEY, J. P., & BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animals and man**. CRC Press, Inc., 1988.

DUBEY, J.P.; PORTERFIELD, M.L. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. **The Journal of Parasitology**, v.76, p.732– 734, 1990.

DUBEY, J. P.; KERBER, C. E.; GRANSTROM, D. E. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses in Brazil. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 7, p. 970-972, 1999.

- DUBEY, John P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean J. Parasitol**, v. 41, n. 1, p. 1, 2003. <https://doi.org/10.3347/kjp.2003.41.1.1>
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2007. <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-06>
- DUBEY, J. P., NESS, S. L., KWOK, O. C. H., CHOUDHARY, S., MITTEL, L. D., & DIVERS, T. J Seropositivity of *Toxoplasma gondii* in domestic donkeys (*Equus asinus*) and isolation of *T. gondii* from farm cats. **Veterinary Parasitology**, v. 199, n. 1-2, p. 18-23, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.09.027>
- FÁVERO, J. F.; DA SILVA, A. S.; BIAZUS, A. H.; VOLPATO, A. *Trypanosoma vivax* infection in goat in west of Santa Catarina state, Brazil. **Comparative Clinical Pathology**, v. 25, n. 2, p. 497-499, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2216-7>
- FERREIRA, E. P., VIDOTTO, O., ALMEIDA, J. C., RIBEIRO, L. P., BORGES, M. V., PEQUENO, W. H. & VIEIRA, R. F. Serological and molecular detection of *Theileria equi* in sport horses of northeastern Brazil. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 47, p. 72-76, 2016.
- FETENE E, LETA S, REGASSA F, BÜSCHER P. Global Distribution, Host Range and Prevalence of *Trypanosoma Vivax*: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Research Square**; 2020. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-93405/v1>
- GOLYNSKI, A. A., FERNANDES, K. R., BALDANI, C. D., GOLYNSKI, A. L., MADEIRO, A. S., MACHADO, R. Z. & MASSARD, C. L Estudo soroepidemiológico da *Babesia equi* em eqüinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil determinado pelos testes de Imunofluorescência Indireta e ELISA. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 317-321, 2008.
- GONZATTI, M. I., GONZÁLEZ-BARADAT, B., ASO, P. M., & REYNA-BELLO, A. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* and typanosomosis in Latin America: secadera/huequera/cacho hueco. In: **Trypanosomes and Trypanosomiasis**. Springer, Vienna, 2014. p. 261-285. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1556-5_11
- GRAB, D. J., NIKOLSKAIA, O. V., INOUE, N., THEKISOE, O. M., MORRISON, L. J., GIBSON, W., & DUMLER, J. S. Using detergent to enhance detection sensitivity of African trypanosomes in human CSF and blood by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). **PLoS Negl Trop Dis**, v. 5, n. 8, p. e1249, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001249>
- GUERRA, N. R., ALMEIDA, J. C., SILVA, E. L., SILVA, E. M., SANTOS, J. A., LEPOLD, R., & ALVES, L. C. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em equídeos do Nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 38, n. 3, p. 400-406, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5143>
- GUERRA, R. D. M. S. N. D. C., FEITOSA JÚNIOR, A. B., SANTOS, H. P., ABREU-SILVA, A. L., & SANTOS, A. C. G. D. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf

in the state of Maranhão, Brazil. **Cienc. Rural**, v. 38, n. 3, p. 833-835, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000300041>

HEIM, A.; PASSOS, L. M. F.; RIBEIRO, M. F. B.; COSTA-JUNIOR, L. M.; BASTOS, C. V.; CABRAL, D. D.; HIRZMANN, J.; PFISTER, K. Detection and molecular characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil. **Parasitology Research**. Munique, v. 102, p. 63-68, set. 2007.

HEMPHILL, A. & GOTTSTEIN, B. An European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.877-924, 2000.

HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1669–1676, 1999.

HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 8, n. 10, p. 634-640, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2002.00485.x>

HOANE, J. S., GENNARI, S. M., DUBEY, J. P., RIBEIRO, M. G., BORGES, A. S., YAI, L. E. & HOWE, D. K. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. **Veterinary Parasitology**, v.136, p.155-159, 2006.

HOARE, C. A. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. **The trypanosomes of mammals. A zoological monograph.**, 1972.

IKADAI, H.; NAGAI, A.; XUAN, X.; IGARASHI, I.; KAMIO, T.; TSUJI, N.; OYAMADA, T.; SUZUKI, N.; FUJISAKI, K. Seroepidemiologic studies on 55 *Babesia caballi* and *Babesia equi* infections in Japan. **The Journal of Veterinary Medical Science**. Japão, v. 64, n. 4, p. 325-328, ago. 2002.

KAGGWA, E. K., KWARI, H. D., AJAYI, M. O., & SHINGGU, P. Clinical parameters of donkeys before and after *Trypanosoma vivax* infection. **Revue Eh. Méd. vét. Pays trop**, v. 41, n. 3, p. 265-269, 1988. <https://doi.org/10.19182/remvt.8691>

KANEKO, H., KAWANA, T., FUKUSHIMA, E. & SUZUTANI, T. Tolerance of loop-mediated isothermal amplification to a culture medium and biological substances. **J. Biochem. Biophys Methods**, v. 70, n. 3, p. 499-501, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.08.008>

KOMPALIC-CRISTO, A.; BRITTO, C.; FERNANDES, O. Molecular diagnosis of toxoplasmosis: review. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, p. 229-235, 2005.

LAUS, F., SPATERNA, A., FAILLACE, V., VERONESI, F., RAVAGNAN, S., BERIBÉ, F. & TESEI, B. Clinical investigation on *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in Italian donkeys. **BMC veterinary research**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2015.

LEAL, D. C., MADRUGA, C. R., MATOS, P. F. D., SOUZA, B. M. D. S., & FRANKE, C. R. Evaluation of PCR and multiplex PCR in relation to nested PCR for diagnosing *Theileria equi*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 7, p. 575-578, 2011.

LINDSAY, D. S. Neosporosis: an emerging protozoal disease of horses **Equine Veterinary Journal**, v.33, n.2, p.116-118, 2001.

LINHARES, G. F. C., DE CARVALHO DIAS FILHO, F., FERNANDES, P. R., & DUARTE, S. C. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 455-460, 2006. <https://doi.org/10.5216/cab.v7i4.876>

LOCATELLI-DITTRICH, R.; HOFFMANN, D.C.S.; DITTRICH, J.R. Neosporose eqüina – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 3, p. 1-10, 2006.

LOPES, S. T. P., PRADO, B. D. S., MARTINS, G. H. C., BESERRA, H. E. A., SOUSA FILHO, M. D., EVANGELISTA, L. D. M. & OUZA, J. A. T. *Trypanosoma vivax* em bovino leiteiro. **Acta Sci. Vet**, v. 46, p. 1-5, 2018.

MALEKIFARD, F., TAVASSOLI, M., YAKHCHALI, M., & DARVISHZADEH, R. Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* using microscopic and molecular methods in horses in suburb of Urmia, Iran. In: **Veterinary research forum: an international quarterly journal**. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, p. 129. 2014.

MANS, BEN J.; PIENAAR, RONEL; LATIF, ABDALLA A. A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, n. 1, p. 104-118, 2015.

MAROSO, J. D. A., ESCOBAR, A. W., NIZOLI, L. Q., DA SILVA, S. S., LUNGE, V. R., SIMON, D., & PASSOS, D. T. Comparação dos testes de imunofluorescência indireta (RIFI) e reação em cadeia da polimerase aninhada (NESTED-PCR) NO diagnóstico da infecção de eqüinos por *Babesia equi*. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, n. 1, 2002.

MARQUES, L.C., COSTA, J.A., LOPES, W.G.C., MORAES, R.F., & MORAES R. E. J. Experimental toxoplasmosis in pregnant mares: a study of fetuses and placentas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, vol.32, p.246–250, 1995.

MARSH, A. E., BARR, B. C., PACKHAM, A. E., & CONRAD, P. A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: *sarcocystidae*). **The Journal of parasitology**, 983-991, 1998.

MARSH, A. E., BARR, B. C., MADIGAN, J., LAKRITZ, J., NORDHAUSEN, R., & CONRAD, P. A. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n.209, p.1907-1913, 1996.

MEHLHORN, H. & SCHEIN, E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi*. **Parasitology Research**. Alemanha, v. 84, n. 6, p. 467-475, jun. 1998.

MOLOO, S. K., ORINDA, G. O., SABWA, C. L., MINJA, S. H., & MASAKE, R. A. Study on the sequential tsetse-transmitted *Trypanosoma congolense*, *T. brucei brucei* and *T. vivax* infections to African buffalo, eland, waterbuck, N'Dama and Boran cattle. **Veterinary parasitology**, v. 80, n. 3, p. 197-213, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00209-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00209-X)

NANTES, J. H., ZAPPA, V., & DA FAMED-GARÇA, E Nutaliose: revisão de literatura. **Revta Cient. Eletrôn. Med. Vet.**, p. 1679-7353, 2008.

NIMITPHAK, T., KIATPATHOMCHAI, W., & FLEGEL, T. W. Shrimp hepatopancreatic parvovirus detection by combining loop-mediated isothermal amplification with a lateral flow dipstick. **Journal of Virological Methods**, v. 154, n. 1-2, p. 56-60, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.09.003>

NJIOKOU, F., SIMO, G., NKININ, S. W., LAVEISSIERE, C., & HERDER, S. Infection rate of *Trypanosoma brucei* sl, *T. vivax*, *T. congolense* “forest type”, and *T. simiae* in small wild vertebrates in south Cameroon. **Acta tropica**, v. 92, n. 2, p. 139-146, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2004.04.011>

NOTOMI, T., OKAYAMA, H., MASUBUCHI, H., YONEKAWA, T., WATANABE, K., AMINO, N., & HASE, T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 12, p. e63-e63, 2000. <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>

ONYICHE, T. E., TAIQE, M. O., MOLEFE, N. I., BIU, A. A., LUKA, J., OMEH, I. J. & THEKISOE, O. Equine piroplasmiasis: an insight into global exposure of equids from 1990 to 2019 by systematic review and meta-analysis. **Parasitology**, v. 147, n. 13, p. 1411-1424, 2020.

PAIVA, F., DE LEMOS, R. A. A., NAKAZATO, L., MORI, A. E., BRUM, K. E., & BERNARDO, K. C. A. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil: I—Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 9, n. 2, p. 135-141, 2000.

PARRA, A. C. **Investigação diagnóstica de doença concomitante babesiose e anaplasmose em rebanho equino, por técnicas de Nested PCR ec-ELISA ou ELISA indireto**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PATITUCCI, A. N., PÉREZ, M. J., CARCAMO, C. M., & BAEZA, L. Presencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en equinos en Chile, **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.36, n.2, p.203-206, 2004.

PIMENTEL, D. S., DO NASCIMENTO RAMOS, C. A., DO NASCIMENTO RAMOS, R. A., DE ARAÚJO, F. R., BORBA, M. L., DA GLORIA FAUSTINO, M. A., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.019>

PINCHBECK, G. L., MORRISON, L. J., TAIT, A., LANGFORD, J., MEEHAN, L., JALLOW, S. & CHRISTLEY, R. M. Trypanosomosis in The Gambia: prevalence in working horses and donkeys detected by whole genome amplification and PCR, and evidence for interactions between trypanosome species. **BMC veterinary research**, v. 4, n. 1, p. 7, 2008. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-4-7>

POSADA-GUZMÁN, M. F., DOLZ, G., ROMERO-ZÚÑIGA, J. J., & JIMÉNEZ-ROCHA, A. E. Detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in blood from equines from four indigenous communities in Costa Rica. **Veterinary medicine international**, v. 2015, 2015.

PUSTERLA, N., CONRAD, P. A., PACKHAM, A. E., MAPES, S. M., FINNO, C. J., GARDNER, I. A. & WILSON, W. D. Endogenous transplacental transmission of *Neospora hughesi* in naturally infected horses. **Journal of Parasitology**, v.97, n.2, p. 281–285, 2011.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. Diseases associated with protozoa. **Veterinary Medicine**. 10 ed. Edinbrgh: Saunders Elsevier, 2006, v. 2, cap. 26, p. 1483-1497

RAMIREZ GUTIERREZ, Fredda Vanessa. **Diagnostico de hemoparasitos en equinos en la region del Pacifico de Nicaragua utilizando frotis sanguineo**. Tese de Doutorado. Universidad Nacional Agraria, UNA. 2007.

RODRIGUES, C. M., BATISTA, J. S., LIMA, J. M., FREITAS, F. J., BARROS, I. O., GARCIA, H. A. & TEIXEIRA, M. M. Field and experimental symptomless infections support wandering donkeys as healthy carriers of *Trypanosoma vivax* in the Brazilian Semiarid, a region of outbreaks of high mortality in cattle and sheep. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1169-7>

SALVAGNI, C. A., DAGNONE, A. S., GOMES, T. S., MOTA, J. S., ANDRADE, G. M., BALDANI, C. D., & MACHADO, R. Z. Serologic evidence of equine granulocytic anaplasmosis in horses from central West Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 135- 140, 2010.

SGORBINI, M., BONELLI, F., NARDONI, S., ROCCHIGIANI, G., CORAZZA, M., & MANCIANTI, F. Seroprevalence and molecular analysis of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses from central Italy during a 10-year period. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 10, p. 865-868, 2015.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 66, n. 1, p. 25-32, 1972. <https://doi.org/10.1080/00034983.1972.11686794>

SILBERMAYR, K., LI, F., SOUDRÉ, A., MÜLLER, S., & SÖLKNER, J. A novel qPCR assay for the detection of African animal trypanosomosis in trypanotolerant and trypanosusceptible cattle breeds. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 7, n. 8, p. e2345, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002345>

SILVA, R. A. M. S., SILVA, J. A. D., SCHNEIDER, R. C., FREITAS, J. D., MESQUITA, D., MESQUITA, T. & PEREIRA, M. E. B. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 5, p. 561-562, 1996. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761996000500005>

SUH, P. F., NJIOKOU, F., MAMOUDOU, A., AHMADOU, T. M., MOUHAMAN, A., & GARABED, R. Bovine trypanosomiasis in tsetse-free pastoral zone of the Far-North region, Cameroon. **J. Vector Borne Dis.**, v. 54, n. 3, p. 263, 2017. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.217618>

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, Oxon, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

TERKAWI, M. A., ALHASAN, H., UENO, A., RATTHANOPHART, J., LUO, Y., CAO, S. & IGARASHI, I. C-terminal region of 48-kDa rhoptry protein for serological detection of *Babesia caballi* antibodies in horses. **Parasitology international**, v. 61, n. 3, p. 493-496, 2012.

TOSCAN, G., CADORE, G. C., PEREIRA, R. C., SILVA, G. B., CEZAR, A. S., SANGIONI, L. A. & VOGEL, F. S. Neosporose equina: ocorrência de anticorpos anti-*Neospora* spp. e associação entre *status* sorológico de éguas e de suas crias. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.8, p.641-645, 2010.

UILENBERG G. Babesia: a historical overview. **Veterinary Parasitology**. França, v. 31, n. 138 (1-2), p. 3-10, 2006.

VERONESI, F., DIAFERIA, M., MANDARA, M. T., MARENZONI, M. L., CITTADINI, F., & FIORETTI, D. P. *Neospora* spp. infection associated with equine abortion and/or stillbirth rate. **Veterinary Research Communications**, v.32, n.1, p.223-226, 2008.

VIEIRA, O. L. E., MACEDO, L. O. D., SANTOS, M. A. B., SILVA, J. A. B. A., MENDONÇA, C. L. D., FAUSTINO, M. A. D. G., & CARVALHO, G. A. D. Detection and molecular characterization of *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* in dairy cattle in the state of Sergipe, northeastern Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 26, n. 4, p. 516-520, 2017. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612017048>

VILLALOBOS, E. M. C., UENO, T. E. H., DE SOUZA, S. L. P., CUNHA, E. M. S., DE SOUZA, M. D. C. C., LARA, H. & SOARES, R. M. Association between the presence of serum antibodies against *Neospora* spp. and fetal loss in equines. **Veterinary Parasitology**, v.142, p.372-375, 2006.

VILLALOBOS, E.M.C. Estudo de caso-controle para verificação de associação entre distúrbios reprodutivos em fêmeas da espécie equina e infecção por *Neospora* sp. In: "I Fórum Brasileiro de Estudos sobre *Neospora caninum*", USP, São Paulo, **Anais...** 59, 2005.

YADAV, S. C., KUMAR, P., KHURANA, S., & KUMAR, R. Seroprevalence of *Trypanosoma evansi* infection in equines of north and north western states of

India. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 79, p. 63-67, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.05.019>

CAPÍTULO 2

ABSENCE OF ANTIBODIES AGAINST EQUIDEA EXPOSED TO INFECTED CATTLE BY *Trypanosoma vivax*

(Submitted article to Veterinary Parasitology: Regional Reports)

Steffany Oliveira Barbosa, Fernanda Beatriz Pereira Cavalcanti, Tayna Rosendo da Silva, Welber Lopes Zanetti, Rosangela Zacarias Machado and, Fabiano Antonio Cadioli

ABSTRACT - *Trypanosoma vivax* is a hemoprotozoan that infects wild and domestic ungulate animals. Several reports prove this parasite occurrence in Africa equids, equine being more susceptible than donkeys to the parasite. Although Brazil is endemic for *T. vivax* cattle disease, a diagnosis for this disease in equids is rare. This study aimed to verify the presence of anti-*T. vivax* antibodies in equids exposed to *T. vivax* positive bovine cattle in MG, SP, and CE states. 154 equids were tested for *T. vivax* using the IFAT method. The animals were divided into 2 groups: GE and GC. Some of GE's equids presented ataxia, liver injury and reproductive disorders. These animals were subjected to serological tests for *T. gondii*, *N. caninum*, *T. evansi*, *T. equi* and *B. caballi*, the highest occurrence being *T. gondii*. The absence of positive results of *T. vivax* indicates that equids may be refractory to this agent representing a questionable importance to epidemiology bovine trypanosomosis in Brazil.

Keywords: serologic diagnosis, horse, donkey, IFAT, animal trypanosomosis

1. INTRODUCTION

Trypanosoma vivax is a hemoprotozoan that mainly infects wild and domestic ungulate animals (DAGNACHEW; BEZIE, 2015). This parasite that causes diseases in donkey and equines is often reported in Africa (FAYE et al., 2001; DHOLLANDER et al., 2006; PINCHBECK et al., 2008; SALIM et al., 2014), with horses being more susceptible to the disease (PINCHBECK et al., 2008). The infections have a chronic course, and the most common symptoms are progressive anemia, weakness, swelling, and neurologic disorder (BUSCHER et al., 2019; DHOLLANDER et al., 2006).

In Brazil, horses naturally infected by *T. vivax* presented pale mucous membranes, fever, weight loss, and abdomen and vulva or prepuce edema. However, rare trypomastigotes forms were found in the blood smear examination, suggesting low parasitemia (DA SILVA et al., 2011). In cases such as this, the antibody detection is viable and may provide indirect evidence of infection, as recommended by OIE the IFAT and ELISA techniques for *T. vivax* detection (AREGAWI, 2019).

This study aimed to investigate the possibility that equids can be trypanosomosis reservoirs by the presence of anti-*T. vivax* antibodies in equids that were in direct contact with dairy herds infected by this protozoan.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 ANIMALS AND GROUPS

One hundred fifty-four adult equids with ages between 3 and 15 years old were used from different farms in São Paulo, Minas Gerais and Ceará States with no distinction regarding sex and breed (Table 1). Each farm was represented by a letter from A to K and each animal by a number.

The farms and respective animals were segregated in a Control Group (CG) whose samples were of equids from farms without a history or suspect of infection; CG is represented by A, B, E, F, G and H farms. The Exposed Group (EG) consists of samples from equids C, I, J and K farms in which cattle bovine previously had a *T. vivax* diagnosis by parasitological and serological (IFAT or ELISA) tests, being that none of the equids was treated against this protozoan. EG farms were selected from the following factors: positive *T. vivax* diagnosis in parasitological and or molecular exams, positive serology exams in less than 10% of herds, recent mortality history and a drop in production in the previously cited herd to positive diagnoses and the beginning of herd treatment less than 4 months.

2.2 SAMPLES

Blood sample was obtained through venipuncture of the jugular vein through vacuum collection in 5 mL tubes without anticoagulant. Each tube was identified with

a code made up a letter and a number corresponding to the respective farm and animal.

The tubes were centrifuged and after the serum was obtained, it was aliquoted in triplicate, identified and kept frozen at -20°C until use.

2.3 SEROLOGY

T. vivax

All the samples were subjected to the IFAT test for *T. vivax* diagnosis. Trypomastigotes forms of *T. vivax* were separated from the blood of the goats used to expand the Lins isolate, as described by GONZÁLES et al. (2005). Then they were distributed onto microscopic slides into pre-defined cavities, fixed with pure acetone at 46,4°F. The prepared slides were subjected to IFAT reaction as described by AQUINO et al. (1999) with minor modifications. Rabbit anti-goat IgG conjugate derived from clone GT-34 was used coupled to fluorescein isothiocyanate - total molecule (Sigma-Aldrich® 128, Saint 129 Louis, United States) and diluted 1:300 in PBS solution containing Evans's Blue 130 at 0,1%. The slides were read by an Olympus BX-FLA microscope (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) equipped for fluorescence.

Other haemaprotozoan

Farm C equids (32 animals) also tested for *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Babesia caballi*, *Theileria equi* and *Trypanosoma evansi*. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Trypanosoma evansi* used the IFAT technique, with respective dilutions 1:40; 1:50 and 1:80. Anti-equine IFAT conjugate (SIGMA, cat. N. F7759) was used at 1:64 dilution following manufacturer's instructions. For *Babesia caballi* and *Theileria equi* tests, it was opted to use the ELISA method with conjugate of ELISA (SIGMA, cat. N. A6063, 1:30.000), using crude antigen and recombinant protein (EMA-1), as described by MACHADO et al. (2012). Animals were considered positive when optical densities were equal to or greater than 0,361 for *B. caballi* and 0,406 for *T. equi*.

3. RESULTS AND DISCUSSION

This unprecedented study sought the presence of anti-*T. vivax* antibodies through serologic evidence in equids exposed to infected bovine herds; however, no evidence was found that equids are infected in these conditions. The participation of

equids in the *T. vivax* epidemiological chain may not be discussed often. However, it is important when considering treatment programs on farms infected with bovine trypanosomiasis, which are carried out in the long term, as soon as they act as reservoirs of this parasite. The lack of scientific subsidies has led to “uncertain diagnosis” of *T. vivax* infections in horses with varying symptoms and the extra-label use of isometamidium hydrochloride, often with disastrous results reported by veterinarians in the field.

Although bovines naturally infected by *T. vivax* may present symptoms such as anemia, leukopenia, progressive weight loss, miscarriage, and neurological signs (SILVA et al. 1999; BATISTA et al., 2007; DA SILVA et al., 2009; DA SILVA et al., 2011), only weight loss and anemia are described in *T. vivax* infected equines in Africa (STEPHEN, MACKENZIE, 1959; ANOSO, 1983; DHOLLANDER et al., 2006; PINCHBECK et al., 2008).

On the other hand, *T. vivax* equine infections in Brazil have been described only by DA SILVA et al. (2011) and RODRIGUES et al. (2015). DA SILVA et al. (2011) observed horses naturally infected in Brazil's Southern region, and their main symptoms of pale mucous membranes, fever, weight loss and, abdomen and foreskin or vulva edema were symptoms similar to those observed in the *T. evansi* infection (CADIOLI et al., 2006). RODRIGUES et al. (2015) diagnosed *T. vivax* in asymptomatic wandering donkeys in Paraíba. Progressive weight loss, icterus, miscarriages, metritis, prolonged anestrus, ataxia and deaths were only observed in GE's equine from Farm C. However, direct parasitological methods observed no *T. vivax* trypomastigotes forms, so tests for other protozoan agents were performed as differential diagnoses.

Animals infected by *T. vivax* may show parasitemia below the detection limits for parasitological and molecular tests, especially for asymptomatic carrier animals (DESQUESNES, 2004; CALISTRÍ et al., 2013; CADIOLI et al., 2015; FIDELIS JUNIOR et al., 2019). Nevertheless, the constant fluctuations of parasitemia and changes in surface variant glycoproteins stimulate antibodies against these protozoa throughout the infection, providing an indirect indication of infection. (CALISTRÍ et al., 2013; BUSCHER et al., 2019). For this reason, serological tests are essential for establishing the prevalence and individual diagnosis of trypanosomiasis in animal populations. (DESQUESNES, 2018). In infections of *T. evansi* in donkeys, CADIOLI et al. (2006)

observed seropositive animals through the IFAT test from day four after the infection, rising until day 11, staying steady for 145 days.

The low number of reports of *T. vivax* in horses in Brazil may be related to nonspecific symptoms, making it difficult to differentiate between infections by *T. evansi* and *T. vivax*. In Brazil's Pantanal region, where both species are endemic, only *T. evansi* infections have been reported in equids (SILVA et al., 2002).

On the other hand, there are not enough studies reporting the testing of equids infected with *T. vivax* by serology, and even the diagnosis performed by DA SILVA et al. (2011) and RODRIGUES et al. (2015) did not include serological tests. RODRIGUES et al. (2015) verified that warring donkeys in Brazilian Semiárido are asymptomatic carriers of *T. vivax*. In order to prove that animals could be healthy carriers of this parasite, experimental infection of a group of donkeys was carried out, which were also asymptomatic even with positive results for *T. vivax* in the PCR test. Just like in Africa, Brazilian donkeys proved to be more tolerant when compared to other productive animals related to the *T. vivax* infection (DHOLLANDER et al., 2006; PINCHBECK et al., 2008; SOW et al., 2013; BIRHANU et al., 2015; RODRIGUES et al., 2015).

Only three donkeys were examined in the present study, so almost all animals (98.05%) were composed of horses, considered to be more susceptible to *T. vivax*. However, no seropositivity was observed in any of the EG animals for this haemoparasite. Not even the clinically affected animals showed antibodies against *T. vivax*, although antibodies against *T. gondii*, *B. caballi*, *T. equi*, *T. evansi*, and *N. caninum* were detected (Table 2).

The occurrence of coinfection by protozoan is described in literature and observed in some animals. Animal C14 showed antibodies against *T. gondii*, *B. caballi*, and *T. equi*, and despite this, it did not show any symptoms. Animals C11 e C30 tested positive to *B. caballi*, and *T. equi* and both exhibited symptoms realized to reproduction, such as miscarriages and difficulty getting pregnant. Equines C3, C6, C7, C13, C17 and C18 were positive for *T. gondii* and *T. equi*, animals C6, C7, C13 and C17 had miscarriages and metritis; C3 and C18 were asymptomatic; C15 was the most severe case and had liver complications, icterus, weight loss, miscarriage, ataxia and, lastly, death. *T. gondii* was the most prevalent. GUERRA et al. (2018) observed the

occurrence of *T. gondii* between 0% and 70% in equines in Brazil. Although equines are resistant to this agent (TURNER; SAVVA, 1991) and many times the disease is considered asymptomatic (LANGONI et al., 2007), problems related to reproduction such as fetal damage and abortion are common (SILVEIRA, 2001). In the present study, the high frequency of *T. gondii* suggests that the symptoms presented may be related to this protozoan since reproductive failures were frequent. However, these agents do not seem to predispose infection by *T. vivax* in equids.

4. CONCLUSION

The fact that the equids tested did not demonstrate positive serology for *Trypanosoma vivax*, even though exposed to infected dairy herds, indicates these animals are not easily infected or that they may even be refractory to this etiological agent. In addition, the hypothesis that they can keep parasitemia very low and may not develop enough antibodies for detection by serological methods is controversial because if the parasitemia remains extremely low to the point of not promoting the production of antibodies, the role of equids in the epidemiological chain of *T. vivax* in the Americas is probably irrelevant.

5. REFERENCES

- ANOSA, Victor O. Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B**, v. 30, n. 1-10, p. 717-741, 1983.
- AQUINO, Lúcia Padilha Cury Thomaz de et al. Clinical, parasitological and immunological aspects of experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 255-260, 1999.
- AREGAWI, Weldegebrial G. et al. Systematic review and meta-analysis on the global distribution, host range, and prevalence of *Trypanosoma evansi*. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-25, 2019.
- BATISTA, J. S. et al. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semi-arid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary parasitology**, v. 143, n. 2, p. 174-181, 2007.
- BÜSCHER, Philippe et al. Equine trypanosomosis: enigmas and diagnostic challenges. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2019.
- CADIOLI, Fabiano Antonio et al. Detection of *Trypanosoma vivax* using PCR and LAMP during aparasitemic periods. **Veterinary parasitology**, v. 214, n. 1-2, p. 174-177, 2015.

- CADIOLI, Fabiano Antonio et al. Experimental *Trypanosoma evansi* infection in donkeys: hematological, biochemical and histopathological changes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 749-756, 2006.
- CALISTRI, Paolo et al. Dourine reemergence in Italy. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 2, p. 83-89, 2013.
- DA SILVA, A. S. et al. Horses naturally infected by *Trypanosoma vivax* in southern Brazil. **Parasitology research**, v. 108, n. 1, p. 23-30, 2011.
- DA SILVA, Aleksandro Schafer et al. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Cienc. Rural**, v. 39, n. 8, p. 2550-2554, 2009.
- DAGNACHEW, S; BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. **Afr J Basic Appl Sci**, v. 7, n. 1, p. 41-64, 2015.
- DESQUENES, M. Animal Trypanosomoses. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Cap. 3.4.16, p. 1222-1235. OIE, 2018.
- DESQUESNES, M. Livestock Trypanosomoses and their Vectors in Latin America. **Paris: OIE & CIRAD**; 2004.
- DHOLLANDER, S. et al. Equine trypanosomosis in the Central River Division of The Gambia: a study of veterinary gate-clinic consultation records. **Preventive veterinary medicine**, v. 75, n. 3-4, p. 152-162, 2006.
- FAYE, D. et al. Prevalence and incidence of trypanosomosis in horses and donkeys in the Gambia. **Veterinary Parasitology**, v. 101, n. 2, p. 101-114, 2001.
- FIDELIS JUNIOR, Otavio Luiz et al. Comparison of conventional and molecular techniques for *Trypanosoma vivax* diagnosis in experimentally infected cattle. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, n. 2, p. 203-209, 2019.
- GONZÁLES, L.F. et al. *Trypanosoma vivax*: A novel method for purification from experimentally infected sheep blood. **Experimental Parasitology**, v. 111, p. 126-129, 2005.
- GUERRA, Neurisvan R. et al. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em equídeos do Nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 38, n. 3, p. 400-406, 2018.
- LANGONI, Helio et al. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**, v. 44, n. 1, p. 27-32, 2007.
- MACHADO, R. Z. et al. Molecular and serological detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in donkeys (*Equus asinus*) in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 186, n. 3-4, p. 461-465, 2012.

OSÓRIO, Ana Luiza Alves Rosa et al. *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.

PINCHBECK, Gina L. et al. Trypanosomosis in The Gambia: prevalence in working horses and donkeys detected by whole genome amplification and PCR, and evidence for interactions between trypanosome species. **BMC veterinary research**, v. 4, n. 1, p. 7, 2008.

RODRIGUES, Carla MF et al. Field and experimental symptomless infections support wandering donkeys as healthy carriers of *Trypanosoma vivax* in the Brazilian Semiarid, a region of outbreaks of high mortality in cattle and sheep. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2015.

SALIM, Bashir; BAKHEIT, Mohammed Ahmed; SUGIMOTO, Chihiro. Molecular detection of equine trypanosomes in the Sudan. **Veterinary parasitology**, v. 200, n. 3-4, p. 246-250, 2014.

SILVA, R. A. M. S. et al. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle. **Embrapa Pantanal-Livro científico (ALICE)**, 2002.

SILVA, R. A. M. S. et al. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Veterinary parasitology**, v. 85, n. 1, p. 87-93, 1999.

SILVEIRA, Cláudio. Toxoplasmose: levantamento bibliográfico de 1997 a 2000. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 64, n. 3, p. 263-270, 2001.

SOW, Adama et al. Baseline survey of animal trypanosomosis in the region of the Boucle du Mouhoun, Burkina Faso. **Research in veterinary science**, v. 94, n. 3, p. 573-578, 2013.

STEPHEN, L. E.; MACKENZIE, C. P. Experimental *Trypanosoma vivax* infection in the horse. **Veterinary Record**, v. 71, p. 527, 1959.

TURNER, C. B.; SAVVA, D. Detection of *Toxoplasma gondii* in equine eyes. **Veterinary Record**, v. 129, n. 6, p. 128-128, 1991.

TABLE 1: Farms, localization and number of samples taken for the present experiment.

Farms	City/State	Number of samples	Equines	Donkeys	Mule
A	Patrocínio/MG	29	28	0	1
B	Serra do Salitre/MG	49	49	0	0
E	Andradina/SP	21	21	0	0
F	Andradina/SP	4	4	0	0
G	Andradina/SP	2	2	0	0
H	Andradina/SP	5	5	0	0
	Subtotal	110	109	0	1
C+	Matanguape/CE	32	30	2	0
I+	Mococa/SP	6	6	0	0
J+	Araçatuba/SP	2	2	0	0
K+	Lins/SP	4	4	0	0
	Subtotal	44	42	2	0
	Total	154	151	2	1

+Farms with *T. vivax* positive diagnostic. To see the map, click on the [link](#).

TABLE 2 – Clinical aspects and antibodies against *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Trypanosoma evansi*, *Babesia caballi* and *Theileria equi* detection in equids in farm with positive *T. vivax* bovine herds from Maranguape/CE.

Animal	Clinical aspects	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Neospora caninum</i>	<i>Trypanosoma evansi</i>	<i>Babesia caballi</i>	<i>Theileria equi</i>
		1:40	1:50	1:80	>0.361	>0.406
C1	A	Positive	Negative	Negative	0,196	0,327
C2		Negative	Negative	Negative	0,170	0,404
C3	A	Positive	Negative	Negative	0,246	0,530
C4	Ab	Negative	Negative	Negative	0,319	0,515
C5 D	A	Negative	Negative	Negative	0,267	0,462
C6	Ab	Positive	Negative	Negative	0,314	0,560
C7	Ab; M	Positive	Negative	Negative	0,290	0,507

C8	A	Negative	Negative	Negative	0,295	0,634
C9	Ab	Negative	Negative	Negative	0,267	0,570
C10	A	Positive	Negative	Negative	0,268	0,300
C11	DP	Negative	Negative	Negative	0,448	0,712
C12	A	Positive	Negative	Negative	0,175	0,229
C13	Ab	Positive	Negative	Negative	0,353	0,632
C14 D	A	Positive	Negative	Negative	0,467	0,714
C15	Ab; At; De; WL	Positive	Negative	Negative	0,299	0,649
C16	Ab	Positive	Negative	Negative	0,214	0,260
C17	Ab	Positive	Negative	Negative	0,238	0,492
C18	A	Positive	Negative	Negative	0,259	0,521
C19	Ab	Positive	Negative	Negative	0,267	0,283
C20	Ab	Positive	Negative	Negative	0,262	0,457
C21	Ab	Negative	Negative	Negative	0,288	0,272
C22	At; DP; WL	Negative	Negative	Negative	0,214	0,539
C23		Negative	Negative	Negative	0,283	0,400
C24	WL	Negative	Negative	Negative	0,255	0,357
C25		Negative	Negative	Negative	0,149	0,290
C26		Negative	Negative	Negative	0,178	0,238
C27	Ab	Negative	Negative	Negative	0,180	0,365
C28	Ab; DP	Negative	Negative	Negative	0,213	0,272
C29		Negative	Negative	Negative	0,220	0,340
C30	Ab	Negative	Negative	Negative	0,505	0,877
C31		Negative	Negative	Negative	0,218	0,278
C32	Ab; At; DP; WL;	Negative	Negative	Positive	0,205	0,335

A=assintomatic; Ab=abortion; At=ataxia; D=donkey;
De=Death; DP=difficult to get pregnant; M=metritis;
WL=weight loss

ELISA Controls	<i>B. caballii</i>	<i>T. equi</i>
Negative 1	0.144	0.165
Negative 2	0.145	0.16
Positive 1	0.146	1.319
Positive 2	0.147	1.338