

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS
DA RAÇA CURRALEIRO PÉ-DURO**

Débora Ribeiro de Mendonça

Orientador: Prof. Paulo Henrique Jorge da Cunha

GOIÂNIA

2019



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS
DE TESES E
DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

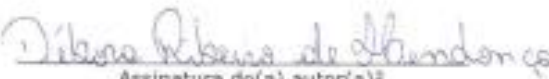
Nome completo do autor: Débora Ribeiro de Mendonça

Título do trabalho: Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro

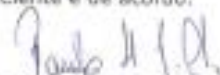
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☐ SIM ☒ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)²

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente
- Submissão de artigo em revista científica
- Publicação como capítulo de livro
- Publicação da dissertação/tese em livro

² A assinatura deve ser escaneada.

DÉBORA RIBEIRO DE MENDONÇA

**INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS
DA RAÇA CURRALEIRO PÉ-DURO**

Dissertação apresentada para a obtenção de grau de mestre em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Área de Concentração:

Cirurgia, Patologia animal e Clínica médica (CiPAC)

Linha de Pesquisa:

Técnicas e modelos experimentais em clínica, cirurgia e anestesiologia animal

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Henrique Jorge da Cunha - EVZ/UFG

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Welber Daniel Zanetti Lopes - IPTSP/UFG

Profa. Dra. Danieli Brolo Martins - EVZ/UFG

GOIÂNIA

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Ribeiro de Mendonça, Débora
INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Trypanosoma vivax* EM
BOVINOS DA RAÇA CURRALEIRO PÉ-DURO [manuscrito] / Débora
Ribeiro de Mendonça. - 2019.
xvi, 40 f.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Jorge da Cunha; co
orientador Dr. Welber Daniel Zanetti Lopes ; co-orientador Dr. Danieli
Brolo Martins .

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola
de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Goiânia, 2019.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista
de tabelas.

1. hemoparasito. 2. modelo experimental. 3. resistência genética.
4. tolerância. 5. tripanosomose. I. Jorge da Cunha, Paulo Henrique,
orient. II. Título.

CDU 639.09

ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



ATA NÚMERO 533 DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Às 14h30min do dia 29/08/2019, reuniu-se na Sala de Defesas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, nesta Capital, Goiânia, Goiás, a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao julgamento da Defesa de Dissertação de Mestrado apresentada pelo(a) Pós-Graduando(a) **Débora Ribeiro de Mendonça**, intitulada "Infecção experimental em bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro por *Trypanosoma vivax*", apresentada para a obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, junto à Área de Concentração: **Cirurgia, Patologia Animal e Clínica Médica**, desta Universidade. O(A) Presidente da Comissão Julgadora, **Prof. Dr. Paulo Henrique Jorge da Cunha**, iniciando os trabalhos, concedeu a palavra ao(a) candidato(a) **Débora Ribeiro de Mendonça**, para exposição em **quarenta** minutos do seu trabalho. A seguir, o(a) senhor(a) Presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessiva aos Examinadores, os quais passaram a arguir o(a) candidato(a) durante o prazo máximo de **vinte** minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição, que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o(a) candidato(a) **Aprovado(a) ou Reprovado(a)**:

Prof. Dr. Paulo Henrique Jorge da Cunha	<u>Aprovada</u>
Prof.ª Dr.ª Maria Ivete de Moura	<u>Aprovada</u>
Prof.ª Dr.ª Maria Clorinda Soares Fioravanti	<u>Aprovada</u>

Em face ao resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o(a) candidato(a) **Débora Ribeiro de Mendonça**, Habilitada [(Habilitado(a) ou não Habilitado(a)) pelo(s) motivo(s) abaixo exposto(s):

ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da dissertação:

*Injeção experimental por Trypanosoma vivax
em bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro*

Nada mais havendo a tratar, eu, **Prof. Dr. Paulo Henrique Jorge da Cunha**, lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme, foi por todos assinada.

Prof. Dr. Paulo Henrique Jorge da Cunha

Prof.^a Dr.^a Maria Ivete de Moura

Prof.^a Dr.^a Maria Clorinda Soares Fioravanti

Paulo H. Jorge da Cunha

Maria Ivete de Moura

M. Clorinda Soares Fioravanti

Dedico a minha família que sempre
me motivou e acreditou em mim.

AGRADECIMENTOS

Sou grata primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me permitir inúmeras bênçãos.

Sou grata à minha família e amigos, por me darem força, apoio e por não me deixar desistir.

Sou grata ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Henrique Jorge da Cunha, primeiramente pela orientação e consequentemente pelos ensinamentos, pelas cobranças e pela confiança em mim depositada.

Agradeço aos meus colegas que me ajudaram nessa jornada ao longo desses dois anos e meio.

Aos bezerros, que mesmo involuntariamente contribuíram muito para o desenvolvimento do trabalho.

À Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG, pela oportunidade e espaço físicos concedidos para o desenvolvimento deste.

Agradeço a CAPES pela bolsa de mestrado e ao CNPq pelo apoio financeiro para este projeto.

A todos aqueles, que ajudaram de alguma forma. Muito obrigado!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	Erro! Indicador não definido.
2.1. <i>Trypanosoma vivax</i>	2
2.2. Epidemiologia do <i>Trypanosoma vivax</i>	3
2.3. Transmissão	5
2.3.1. Transmissão biológica.....	5
2.3.2. Transmissão mecânica.....	6
2.3.3. Transmissão iatrogênica.....	6
2.3.4. Transmissão transplacentária.....	6
2.4 Fisiopatogenia.....	7
2.5. Sinais clínicos	7
2.6. Diagnóstico	9
2.6.1 Diagnóstico parasitológico direto.....	9
2.6.2. Diagnóstico por método indireto (sorológico).....	10
2.6.3. Diagnóstico por métodos moleculares.....	10
2.6.4. Diagnóstico pós-mortem.....	10
2.7. Tratamento	11
2.8. Controle	12
2.9. Bovinos tripanotolerantes.....	12
2.10. Origem do bovino Curraleiro Pé-Duro	12
2.11. Resistência do bovino Curraleiro Pé-Duro	13
CAPÍTULO 2 - INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR <i>Trypanosoma vivax</i> EM BOVINOS DA RAÇA CURRALEIRO PÉ-DURO.....	19
Introdução	211
Material e métodos	233
Resultados.....	266
Discussão.....	29
Referências	332
CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- FIGURA 1 Principais estruturas do *Trypanosoma vivax* observadas via microscopia através de esfregaço sanguíneo: cinetoplasto, núcleo e flagelo.....3

CAPÍTULO 2

- FIGURA 1 Linha cronológica de estudo, indicando os dias de colheita de sangue para realização dos exames laboratoriais: hematológicos e bioquímicos. Os exames parasitológicos foram realizados diariamente.....24
- FIGURA 2 Valores médios e desvio padrão de temperatura corporal (°C) durante 74 dias pós-inoculação. A presença do asterisco indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p \leq 0,05$), pelo teste t de Student para dados pareados.....26
- FIGURA 3 Valores médios e desvio padrão de frequência cardíaca (batimentos por min.) durante 74 dias após a inoculação. A presença do asterisco indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p \leq 0,05$), pelo Teste de Wilcoxon.....27
- FIGURA 4 Valores médios e desvio padrão de frequência respiratória (movimentos por min.) durante 74 dias após a inoculação. A presença do asterisco indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p \leq 0,05$), pelo Teste de Wilcoxon.....27
- FIGURA 5 Valores médios e desvio padrão de movimentos ruminais (movimentos por 5 min.) durante 74 dias após a inoculação. A presença do asterisco indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p \leq 0,05$), pelo Teste de Wilcoxon.....28
- FIGURA 6 Gráfico combinado das médias e desvio padrão de temperatura (°C) em vermelho, hematócrito (%) e contagem de tripomastigotas, durante 74 dias pós-inoculação.....39

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1. Média e desvio padrão dos valores da contagem total de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, VCM, CHCM e contagem total de plaquetas de bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro inoculados avaliados por 74 dias.....37
- TABELA 2. Média e desvio padrão dos valores de contagem total de leucócitos e contagem diferencial de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos de amostra de sangue bovinos avaliados por 74 dias.37
- TABELA 3. Média e desvio padrão dos valores de fibrinogênio, proteína plasmática total, albumina, globulina, CK e glicose de bovinos inoculados avaliados por 74 dias..38
- TABELA 4. Média e desvio padrão dos valores da AST, GGT, creatinina, ureia e bilirrubinas diretas, indiretas e total de bovinos inoculados avaliados por 74 dias.....38

LISTA DE ABREVIATURAS

AST - Aspartato aminotransferase
BILI - Bilirrubina indireta
BLID - Bilirrubina direta
BLIT - Bilirrubina total
CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CHCM - Concentração de hemoglobina corpuscular média
CK - Creatina quinase
CPD - Curraleiro Pé-Duro
CREA - Creatinina
ELISA - Ensaio imunoenzimático
EOS - Contagem diferencial de eosinófilos
ERI – Contagem total de eritrócitos
EVZ - Escola de Veterinária e Zootecnia
FC - Frequência cardíaca
FIB - Fibrinogênio
FR - Frequência respiratória
GGT - Gama glutamiltransferase
GLI - Glicose
HCT - Hematócrito
HGB - Hemoglobina total
LEU - Contagem total de leucócitos
LIN - Contagem diferencial de linfócitos
MONO - Contagem diferencial de monócitos
MR - Movimentos ruminais
PCR - Reação de cadeia de polimerase
PLQ - Contagem total de plaquetas
PROT - Proteína plasmática total
RIFI - Reação de imunofluorescência indireta
SEG - Neutrófilos segmentados
T. vivax - *Trypanosoma vivax*
TC - Temperatura corporal
UFG - Universidade Federal de Goiás
UR - Ureia
VCM - Volume corpuscular médio

RESUMO

Na infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro utilizaram seis bovinos machos, hípidos, com idade mínima entre de oito a 12 meses e peso corporal médio de 98 a 165 kg. O experimento foi dividido em três fases: adaptação (10 dias), inoculação e pós-inoculação (74 dias), a fim de avaliar parâmetros físicos, hematológicos, bioquímicos e parasitológico. O resultado das avaliações físicas apontou hipotermia na fase inicial e final das avaliações e hipertermia no 22º dia pós-inoculação. Houve bradicardia nos primeiros 15 dias e após 45 dias pós-inoculação, enquanto bradipnéia e hipomotilidade foram detectadas ao longo das avaliações. No eritrograma houve redução das hemácias, hemoglobina, volume globular, concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e plaquetas caracterizando uma anemia do tipo normocítica e hipocrômica. No leucograma identificou-se leucopenia com neutropenia. Os bastonetes, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos não obtiveram diferença pois estavam dentro dos parâmetros de normalidade. Na análise de dados das bioquímicas sanguíneas, as alterações foram discretas e pontuais para os seguintes parâmetros bioquímicos: fibrinogênio, proteínas totais, albumina, globulina, creatina quinase, glicose, creatinina, ureia, bilirrubina total, direta e indireta. Notou-se redução da atividade sérica da aspartato aminotransferase nos dias 18 a 60 pós-inoculação e aumento na atividade sérica da gama glutamiltransferase entre os dias 67 e 74 pós-inoculação, porém, esse aumento foi resultado de alteração em dois animais. A parasitemia diagnosticada pelo método de Woo e quantificada pelo método de Brener mostrou-se intensa no estágio inicial da doença e, ao longo das avaliações, houve diminuição dos picos de parasitemia não levando nenhum bezerro ao óbito. Os bovinos pós-inoculação experimental apresentaram sintomas leves e pontuais e sobreviveram a fase aguda da doença, o que sugere comportamento de tolerância em relação ao *T. vivax*.

Palavras chaves: hemoparasito, modelo experimental, resistência genética, tolerância, tripanosomose.

ABSTRACT

In the experimental *Trypanosoma vivax* infection in Curraleiro Pé-Duro cattle, six healthy male cattle with a minimum age of eight to 12 months and an average body weight of 98 to 165 kg were used. The experiment was divided into three phases: adaptation (10 days), inoculation and post-inoculation (74 days) in order to evaluate physical, hematological, biochemical and parasitological parameters. The results of the physical evaluations indicated hypothermia in the initial and final phase of the evaluations and hyperthermia on the 22nd day after inoculation. There was bradycardia in the first 15 days and 45 days after inoculation, while bradypnea and hypomotility were detected throughout the evaluations. In erythrogram there was a reduction in red blood cells, hemoglobin, globular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration (HCCM) and platelets characterizing a normocytic and hypochromic anemia. In the leukogram, leukopenia with neutropenia was identified. The bands, eosinophils, basophils, lymphocytes and monocytes did not differ because they were within the normal range. In the analysis of blood biochemistry data, changes were discrete and punctual for the following biochemical parameters: fibrinogen, total proteins, albumin, globulin, creatine kinase, glucose, creatinine, urea, total direct and indirect bilirubin. Aspartate aminotransferase activities decreased on days 18 to 60 post-inoculation and gamma glutamyltransferase activities increased between days 67 and 74 post-inoculation, however, this increase was due to only two animals. Parasitaemia, diagnosed by the Woo method and quantified by the Brener method, showed to be intense in the early stage of the disease and throughout the evaluations there was a decrease in parasitaemia peaks, leading no calf to death. The cattle after experimental inoculation had mild and punctual symptoms and survived the acute phase of the disease, establishing signs of tolerance in relation to *T. vivax*.

Keywords: experimental model, genetic resistance, hemoparasite, tolerance, trypanosomiasis.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

O agente etiológico da tripanossomose bovina é o protozoário *Trypanosoma vivax*, que pode ser encontrado na corrente sanguínea dos bovinos, e apresenta relevância por seu impacto negativo na pecuária. Animais contaminados apresentam queda na produção de carne e leite, o que gera prejuízos econômicos¹.

Na África o *T. vivax* tem ampla distribuição e importância econômica devido a grande quantidade de vetore biológico, a mosca tsé-tsé. A facilidade de adaptação dessas moscas permitiu a expansão do *T. vivax* para a América Central, América do Sul e Caribe^{2,3}. A primeira ocorrência do *T. vivax* descrita no Brasil foi em búfalos no estado do Pará em 1972. Em Goiás o primeiro surto reportado ocorreu em maio de 2015 e, após esse surto, outros cinco foram descritos. A disseminação da doença no estado está ligada a comercialização de animais oriundos de áreas endêmicas⁴.

Como os sinais clínicos são inespecíficos e aparecem em outras doenças como a babesiose e a anaplasmosse, o diagnóstico não é simples. Os principais achados clínicos são: febre, letargia, fraqueza, anemia, perda de peso, lacrimejamento, diarreia, hemorragias e aborto. Em casos mais graves, o animal pode apresentar sinais nervosos caracterizados por incoordenação, tremores musculares e cegueira transitória e/ou permanente^{2,5-8}. A infecção por *T. vivax* pode ser diagnosticada por métodos parasitológicos, imunológicos e moleculares⁵.

Para o tratamento da tripanossomose bovina são indicadas três drogas, o diaceturato de diminazene, o cloridrato isometamidium e dipropionato de imidocarb^{8,9}. As medidas de controle preconizadas na tentativa de controlar a tripanossomose são o uso de quimioprofilaxia e o controle de vetores com drogas pour-on⁶. Uma outra medida que pode ser adotada é a aquisição de animais somente após realização de testes de diagnóstico, especialmente em bovinos oriundos de áreas endêmicas.

Atualmente existe na África duas raças de bovinos tripanotolerantes que são igualmente suscetíveis a infecção inicial por tripanosomas, possuem capacidade de sobreviver, reproduzir e permanecer em áreas de alto desafio com as moscas transmissoras sem a necessidade do uso de substâncias químicas para controlar o vetor ou drogas para controlar o parasito, ao contrário de outras raças que sucumbem rapidamente a doença¹⁰.

Considerando esses estudos com bovinos tripanotolerantes na África, optou-se por avaliar raças locais brasileiras, sabidamente resistentes, como o bovino Curraleiro Pé-Duro que foi trazido da Península Ibérica para o Brasil, pelos portugueses na época do descobrimento e que passou por um processo de seleção natural e adaptação às condições tropicais. Atualmente, animais desta raça estão presentes no Maranhão, no Piauí, em Goiás e no Tocantins. Os criadores ressaltam a rusticidade, adaptabilidade, resistência, baixo custo de produção e a baixa exigência nutricional como qualidades indiscutíveis desses animais^{11,12}.

Para gerar novos conhecimentos quanto a esses aspectos, pretende-se com o presente estudo avaliar a resposta dos bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro a inoculação experimental do hemoparasita *Trypanosoma vivax*, acompanhando os parâmetros físicos, hematológicos, bioquímicos e parasitológicos.

2. Revisão de literatura

2.1. *Trypanosoma vivax*

O agente etiológico da tripanosomose bovina é o protozoário *Trypanosoma vivax*, cujo hospedeiro definitivo é o bovino, sendo a forma infectante denominada tripomastigota¹. O corpo do parasito é constituído de uma única célula, medindo 18 a 26 µm de comprimento e com um único flagelo livre, possui corpo alongado e achatado em forma de lança^{13,14}.

Na figura 1, o tripomastigota é apresentado em um corte transversal, sua forma é elíptica ou oval e suas extremidades afiladas. A extremidade pela qual avança durante a locomoção é descrita como anterior. O flagelo surge próximo à extremidade posterior do corpo e percorre toda a extensão do tripanosomo, podendo continuar para além da extremidade anterior do corpo como um chicote livre. Várias estruturas estão proeminentes no cinetoplasma, sendo a mais relevante o núcleo, que é centralizado e considerado o centro de comando da célula, desempenhando também papel importante na reprodução. Ele contém o DNA do parasito que é organizado na forma de genes e responsável pela produção de enzimas e outras proteínas da célula^{15,16}.

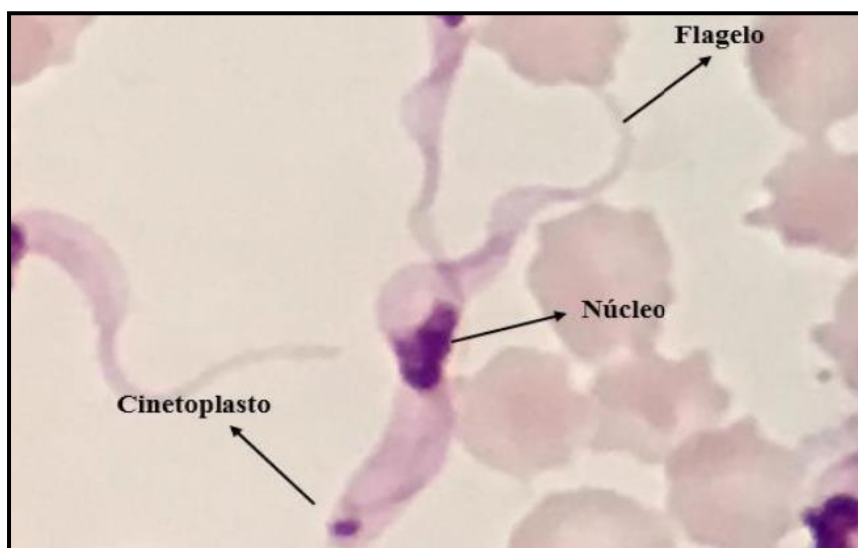


FIGURA 1. Principais estruturas do *Trypanosoma vivax* observadas no esfregaço sanguíneo: cinetoplasto, núcleo e flagelo
Fonte: Couto, 2019¹⁷

2.2. Epidemiologia do *Trypanosoma vivax*

No oeste da África o *T. vivax* é considerado o mais patogênico e importante tripanosoma de bovinos. A facilidade de adaptação do vetor, a mosca tsé-tsé (*Glossina sp.*) permitiu a expansão do *T. vivax* para a América Central e do Sul².

Estima-se que a doença chegou na América do Sul por volta de 1830, por meio dos zebuínos infectados oriundos do Senegal. O primeiro relato da doença nas Américas foi na Guiana Francesa em 1919, em uma propriedade leiteira onde a doença foi associada a queda brusca da produção, anemia, perda de peso e morte do rebanho¹⁸. No ano de 1930, foi identificado surto em outro país, a Colômbia. Posteriormente o *T. vivax* disseminou-se por vários países latinos: El Salvador, Costa Rica, Equador, Peru, Paraguai, Venezuela e Brasil^{19–22}.

A primeira ocorrência do *T. vivax* registrado no Brasil foi no ano de 1946, no estado do Pará em bovinos e, posteriormente em bubalinos e ovinos em 1972^{22,23}. Em 1978 foi identificado o parasito no estado do Amapá em bovinos e bubalinos^{24–26}. Desde então esse parasita esteve restrito ao norte do país, mas com o passar dos anos foi sendo identificado surtos em outras regiões do país². O primeiro relato fora da região Norte foi de 1996 no Mato Grosso do Sul e de 1997 no Mato Grosso^{27,28}. Em 2002 foi identificado surto da doença em bovinos na Paraíba, em 2004 no Maranhão e em 2005 no Tocantins, mostrando a presença do protozoário em propriedades produtoras de leite e carne^{29,30,31}.

No Sudeste do Brasil, o transporte de bovinos assintomático oriundo de regiões endêmicas agiu como grande transmissor do *T. vivax* para bovinos leiteiros, que até então não tinham sido diagnosticados com portadores do parasito. Foram identificados no ano de 2008 em Minas Gerais e São Paulo^{32,33}, em 2010 no Pernambuco³⁴, em 2012 em Alagoas³⁵, em 2013 no Piauí³⁵, em 2015 no Rio de Janeiro³⁶, em 2015 em Goiás³, em 2016 em Sergipe³⁷ e no Rio Grande do Norte em 2018³⁸.

2.3. Transmissão

2.3.1. Transmissão biológica

Na África a transmissão ocorre, principalmente, pelo vetor biológico, a mosca tsé-tsé (*Glossina sp.*)⁶. No interior dessas espécies de mosca, ocorre o desenvolvimento do protozoário^{8,13,39}. O desenvolvimento se inicia com a ingestão, pela mosca, de formas tripomastigotas presentes no sangue do bovino infectado. As formas tripomastigotas são transportadas até o esôfago e faringe, transformando-se em formas epimastigotas. Após 24 horas essas formas migram para o canal alimentar multiplicando-se vigorosamente e direcionando-se para as paredes do labro (parte do aparelho bucal)⁴⁰. Após sua multiplicação, as formas epimastigotas migram em direção à hipofaringe da mosca, onde transformam-se em tripomastigotas, sua forma infectante. Os tripomastigotas são inoculadas no hospedeiro definitivo durante o repasto sanguíneo das moscas hematófagas, se multiplicando a partir daí por divisão binária na corrente sanguínea do hospedeiro¹³. Na América do Sul, onde não existe a mosca tsé-tsé, aparentemente o parasito se adaptou para sobreviver a partir da transmissão mecânica²⁸.

2.3.2. Transmissão mecânica

No Brasil, acredita-se que o parasito se adaptou à transmissão mecânica utilizando outras espécies de dípteros hematófagos para a sua disseminação. O protozoário pode ser transmitido mecanicamente por meio de hospedeiros invertebrados, sem crescimento ou multiplicação no interior dos insetos, a propagação pode ser realizada por tabanídeos, *Stomoxys calcitrans* (mosca dos estábulos) ou até mesmo por *Haematobia irritans* (mosca dos chifres)^{41,42,43}. Mas, para que a transmissão mecânica ocorra, diversas condições devem ocorrer simultaneamente, como a existência de um animal portador com alta parasitemia (animais com alta parasitemia atuam como fontes de infecção mais que animais com baixa

parasitemia), abundância de vetores (no período chuvoso as moscas *Tabanidae* estão em maior quantidade, permanecendo até o fim da estação chuvosa^{6,8,44,45}) e presença de animais susceptíveis (situação comum onde há rotas comerciais de bovinos⁸), seja pela idade, presença de infecções concomitantes, prenhez, lactação e/ou condição nutricional⁴⁶.

2.3.3. Transmissão iatrogênica

A transmissão iatrogênica é aquela que ocorre por meio da utilização de fômites contaminados com o *T. vivax*. No Brasil, comprovou-se por meio de investigações epidemiológicas que o aumento dos casos de infecção por *T. vivax* está relacionado a esse modo de transmissão, principalmente em vacas leiteiras. A transmissão acontece pela utilização de uma única agulha para administração de medicamentos, como ocitocina, vacinas e também reutilização instrumentos cirúrgicos em vários animais sem desinfecção, potencializando a transmissão do parasito, principalmente em rebanhos leiteiros^{3,47,48}.

2.3.4. Transmissão transplacentária

A transmissão transplacentária da vaca para o feto é outra possível via de transmissão, que pode ocorrer durante o período de gestação ou quando o feto entra em contato com o sangue da mãe infectada. A forma iatrogênica é importante por atuar na manutenção da estabilidade enzoótica de infecção por *T. vivax* na América do Sul^{13,49}. Há relatos de que o material genético do *T. vivax* foi encontrado em amostras de tecidos como feto, placenta e líquido amniótico de fêmeas bovinas positivas para tripanosomose experimentalmente infectadas^{50,51}.

2.4. Fisiopatogenia

Quando a mosca tsé-tsé injeta o parasito na pele do hospedeiro, desencadeia a fase de inflamação local com edema, formando o chamado cancro, que se desenvolve. Na inoculação experimental não ocorre a formação do cancro¹⁶.

O parasito entra nos gânglios linfáticos, depois na corrente sanguínea, onde se reproduz rapidamente, de forma assexuada por fissão binária. O *T. vivax* invade os tecidos e resultam em dano tecidual em vários órgãos^{5,52}. O bovino produz anticorpos contra o seu revestimento de superfície, no entanto, os tripanosomos possuem múltiplos genes, que codificam diferentes proteínas de superfície, permitindo que os organismos com novas glicoproteínas de revestimento superem a resposta imune. Este processo é conhecido como

"variação antigênica" e resulta na persistência desses organismos. Alguns parasitos sobrevivem, pois são capazes de substituir suas proteínas de superfície por outras diferentes, contra as quais os anticorpos não podem agir⁵³.

Os tripanosomos sobreviventes são capazes de multiplicar e causar um novo pico de parasitemia, até que o organismo do hospedeiro produza anticorpos específicos contra as novas proteínas da superfície. Esse processo de oscilação continua por muito tempo, pois o tripanosomo é capaz de produzir um número quase ilimitado de variantes antigênicas, de modo que o hospedeiro responde a cada uma delas, até que o repertório antigênico do tripanosoma seja finalmente exaurido, momento em que ocorre a cura do hospedeiro. Nas situações em que a capacidade para reagir a todas as variantes antigênicas é sobrecarregada, o hospedeiro morre¹⁶.

A real causa da morte do animal não está totalmente compreendida, mas acredita-se que o parasito libera substâncias tóxicas quando é destruído dentro do sistema circulatório e, portanto, danifica o revestimento dos vasos sanguíneos. Sendo assim, o dano ao hospedeiro não é decorrente da exaustão dos nutrientes pelo parasito, mas sim da produção de substâncias tóxicas⁵³.

2.5. Sinais clínicos

A ocorrência de sinais clínicos varia de acordo com diversos fatores, como a fase aguda ou crônica da doença. Um aspecto típico e inicial da tripanosomose é a temperatura, há picos de febre em intervalos de alguns dias. A variação antigênica se torna mais lenta à medida que a doença progride e os intervalos entre os picos de temperatura se tornam mais longos e menos intensos¹⁶. Além da febre, pode-se observar anemia, letargia, fraqueza, perda de peso progressiva, ataxia, anorexia, palidez de mucosa, aumento dos linfonodos, queda na produção de leite, aborto e morte. Em alguns casos pode haver lacrimejamento, tosse, diarreia depressão, edema submandibular, descarga nasal e ceratite. Em casos mais graves, o animal pode apresentar sinais nervosos caracterizados por incoordenação motora, tremores musculares e cegueira transitória e/ou permanente^{2,8}.

Um dos principais sinais clínicos da doença é a anemia, existindo várias teorias sobre a patogênese desta alteração. Nos estágios iniciais da doença, acredita-se que ela seja causada em parte pela fagocitose dos eritrócitos (sua remoção por um certo tipo de células brancas do hospedeiro, os fagócitos). Os glóbulos vermelhos aparentemente ficam cobertos com material de tripanosomas lisados, que enganam os fagócitos, confundindo-os com

invasores externos e removendo-os resultando em uma queda na porcentagem de volume globular (hematócrito). É possível que a anemia causada pela fagocitose seja aumentada por substâncias tóxicas emanadas dos tripanosomas que destroem os eritrócitos diretamente por lise (hemólise). O sistema hemopoiético, tenta compensar a perda de eritrócitos aumentando sua atividade. Mais tarde, nos estágios crônicos da tripanossomose, outras toxinas dos parasitas têm um efeito depressor no sistema hemopoiético, de modo que a velocidade de remoção é superior a de produção dos eritrócitos, pois, mesmo que normalmente essas células tenham uma vida útil limitada, agora elas passam a ser removidas mais rapidamente por causa da autoimunidade e da hemólise¹⁶. Na tripanossomose bovina, a anemia é descrita como normocítica normocrômica, com tendência a ser macrocítica normocrômica. A macrocitose é resultado da eritropoiese que ocorre duas semanas após o início da infecção, momento em que os eritrócitos imaturos são liberados na corrente sanguínea^{2,5}.

Devido os sinais clínicos serem inespecíficos para os animais infectados e o parasito sobrepôr o sistema imune do bovino a doença pode ser confundida com outras enfermidades como babesiose, anaplasmoses, raiva e deficiência nutricional, dificultando o diagnóstico definitivo, devendo-se sempre considerar o diagnóstico diferencial para tripanossomose^{31,54}.

Durante o estágio agudo, o apetite é variável, diminuindo durante os picos febris. Mas no estágio crônico, quando as reações de febre são menos pronunciadas, o apetite geralmente é normal, quase até a morte, mesmo quando a fraqueza extrema impede que o animal se levante. Há consumo das reservas de gordura durante as fases recorrentes de febre, mas também há graves alterações degenerativas das células musculares e outras células do tecido, com aumento da degradação de proteínas nos músculos e em outros lugares, levando à degeneração atrofica (as células são reduzidas em tamanho e eficiência). A diminuição da oferta de oxigênio por causa da anemia também é um fator importante. Além disso, na fase crônica pode haver animais assintomáticos podendo prejudicar programas de controle que dependem dos sinais clínicos claros para identificação da doença no rebanho¹⁶. Há relatos que animais na fase aguda morrem dentro de cinco semanas e o animal que chega a fase crônica na doença morrem entre 37 a 58 dias após a infecção⁵.

A fase crônica também está correlacionada a problemas reprodutivos tanto no bovino macho quanto na fêmea. Em touros há relatos de que o dano causado pelo *T. vivax* diminui a qualidade do sêmen, podendo levar a infertilidade e esterilidade. Nas fêmeas a tripanossomose pode desencadear abortos, cios irregulares, retenção de placenta, atraso na involução uterina, mortalidade perinatal e infertilidade⁵⁵.

2.6. Diagnóstico

A infecção por *T. vivax* pode ser diagnosticada por diferentes métodos sendo eles parasitológico direto, sorológicos e moleculares. O diagnóstico parasitológico direto proporciona praticidade na realização com custos menores, porém apresenta menor sensibilidade quando comparados a métodos moleculares. Contudo, é importante salientar que todas essas técnicas sofrem influência direta da parasitemia. Na fase aguda da doença, quando a parasitemia está alta, os métodos diretos conseguem diagnosticar. Já na fase crônica quando a parasitemia está baixa faz-se necessários métodos mais sensíveis para diagnosticar o parasito, como os métodos moleculares^{8,56}.

2.6.1. Diagnóstico parasitológico direto

São diversas as técnicas parasitológicas para diagnóstico de tripanossomose denominadas de método padrão de detecção de *Trypanosoma* (ou *standard trypanosome detection methods*). Elas podem ser de três tipos: (1) Técnicas de gota úmida e esfregaço (espesso e fino); (2) Técnicas de concentração (Teste de concentração em tubo de hematócrito e Método de Woo); e (3) Técnica de inoculação em animal susceptível. Há ainda outros métodos, como a técnica de concentração após lise e centrifugação e a pesquisa de parasito em *imprint* de baço, medula óssea, cérebro e pâncreas, mas são menos utilizados^{16,57,58}.

2.6.2. Diagnósticos por método indireto (sorológico)

Os métodos de diagnósticos sorológicos são mais indicados quando a doença está em sua fase crônica pois são utilizados para detectar anticorpos específicos desenvolvidos pelo hospedeiro após a infecção, ou para demonstrar a circulação de antígenos do parasito no sangue do hospedeiro. Técnicas como o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) podem ser utilizadas para diagnóstico direto ou indireto. São técnicas não muito eficientes, pois em decorrência da variação antigênica dificulta o desenvolvimento e padronização dos testes imunológicos, fazendo com que o diagnóstico específico em qualquer caso continue dependendo da demonstração de tripanosomatídeos por métodos parasitológicos^{8,16,59}. Novos testes sorológicos têm sido desenvolvidos, como o teste rápido de fluxo lateral, que aparentemente não apresenta reação cruzada entre outros *Trypanosoma*, entretanto não está comercialmente disponível⁶⁰.

2.6.3. Diagnósticos por método moleculares

Há dois métodos moleculares muito utilizados, sendo a reação de cadeia de polimerase (PCR) e o teste amplificação isotérmica mediada por *loop* (LAMP), que envolvem a pesquisa de DNA do parasito, cujo resultado positivo indica a presença do agente no organismo do hospedeiro. Essas técnicas tem mostrado excelentes resultados de diagnóstico comparados a outras técnicas, sendo o método de diagnóstico definitivo de tripanosomose em bovinos, porém a realização desse método exige infraestrutura adequada e o processamento das amostras tem custos elevados^{8,61}.

2.6.4. Diagnóstico *pós-mortem*

Os achados *pós-mortem* por si só não levam ao diagnóstico da doença. Na fase aguda há perda de condição corpórea e anemia, o baço, os linfonodos e o fígado estão aumentados, edema na região da barbel, palidez de carcaça, no coração pode haver algumas hemorragias na superfície muscular, é provável que haja mais fluido que o normal nos pulmões, abdome e pericárdio e os rins pálidos e inchados^{16,32}. No diagnóstico histopatológico observa-se hepatite focal, nefrite focal, hiperplasia folicular dos linfonodos, pneumonia focal e adrenalite. No sistema nervoso central, encontra-se meningite e mielite com manguitos perivasculares, predomínio de células mononucleares e macrófagos associados à presença de malácia e células de Glitter⁵⁴. Os achados na fase crônica são mais marcantes, porém também não são indicativos de diagnóstico da doença¹⁶.

2.7. Tratamento

O tratamento satisfatório da tripanosomose possui efeito curativo e/ou preventivo variando da forma e dose medicamentosa utilizados. A velocidade de recuperação é largamente determinada pelo plano nutricional, a quantidade de exercício durante a convalescença e a duração da doença. Animais descansados e bem alimentados recuperam-se mais rapidamente após a terapia tripanocida do que animais subnutridos que têm que percorrer longas distâncias para alcançar pastos e água. Além disso, como a tripanosomose é frequentemente uma doença enzoótica, a emergência clínica ocorre durante as estações desfavoráveis aos bovinos com relação à escassez de alimentos ou de água^{8,16,62}.

Assim sendo, as drogas sozinhas não curam a tripanosomose, pois o parasita sobrecarrega o sistema imunológico do hospedeiro e o tratamento ajuda o sistema imunológico a superar a infecção. No entanto, os portadores tripanosomose crônica muitas

vezes não respondem à terapia e os animais infectados permanecem magros e anêmicos, apesar do tratamento tripanocida^{8,16,62}.

O diaceturato de diminazene é uma diamidina aromática, comercializada em combinação com antipirina, que é um esterilizador que prolonga a atividade do composto em solução. Tem como mecanismo de ação o bloqueio da glicólise e da síntese de DNA do parasito. A tolerância dos ruminantes é razoavelmente boa, e o medicamento é geralmente administrado por via intramuscular nas doses de 3,5 a 7mg/kg^{6,16,55,63}.

O cloreto de isometamidium é uma fenantridina híbrida com propriedades anfipáticas e catiônicas. O produto é apresentado como um pó escuro, avermelhado, com solubilidade em água, instável em condições de pH baixos e altos, além de altas temperaturas. Atua na inibição da síntese do DNA, devido à sua ligação ao DNA por intercalação entre os pares de bases, que leva à inibição da RNA polimerase e DNA polimerase. O cloridrato de isometamidium é administrado por via intramuscular profunda, apresentando efeito curativo na dose de 0,5mg/kg e preventivo quando utilizado 1,0mg/kg^{6,16,55,63}.

O diprionato de imidocarb a princípio era um fármaco babesicida, também utilizado no tratamento de anaplasmose e agentes da tristeza parasitária bovina. Apesar de não ser um agente tripanocida ele atua como droga coadjuvante no tratamento da tripanosomose bovina no Brasil^{64,65}. Sua administração para o tratamento da *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* é realizada na dose de 3 a 5 mg/kg por via intramuscular ou subcutânea⁶⁶. Essa droga promove redução da parasitemia, apesar de não apresentar cura efetiva, ocorrendo a reincidência dos protozoários na circulação após alguns dias do tratamento⁶⁷.

2.8. Controle

Como o *T. vivax* é protozoário com alta variabilidade genética, a produção de vacina eficaz é dificultada, sendo assim, as medidas de controle incluem: evitar movimentação de animais infectados de áreas endêmicas para áreas não endêmicas; controle de vetores pela quimioprofilaxia, uso de drogas *pour-on* e armadilhas impregnantes com inseticidas; evitar o uso compartilhado de agulhas entre os animais e estabelecer uma rotina de exames, para identificar os animais infectados e iniciar o tratamento adequado^{6,16,41,54}.

2.9. Bovinos tripanotolerantes da África

Atualmente existe na África duas raças de bovinos tripanotolerantes, N'Dama e West African Shorthorn (WASH) que são raças taurinas de gado da África Ocidental e Central. Esses animais são igualmente suscetíveis a infecção inicial por tripanosomas, possuem capacidade de sobreviver, reproduzir e permanecer em áreas de alto desafio com as moscas transmissoras sem a necessidade do uso de substâncias químicas para controlar o vetor ou drogas para controlar o parasito, ao contrário de outras raças que sucumbem rapidamente a doença. Há outra raça de bovinos também na África que tem semelhança com as tripanotolerantes já comprovadas, que é a Orma Zebu da África Oriental e a principal característica entre todas elas são a capacidade desses animais em desenvolver anemia menos grave diante da infecção¹⁰.

2.10. Raças brasileiras locais bovinas

No Brasil, os primeiros rebanhos bovinos desembarcaram em São Vicente no ano de 1534. Considera-se que existiam três rotas principais de introdução: São Vicente (São Paulo), Pernambuco e Bahia. Enquanto todos os outros países sul-americanos receberam somente raças espanholas, devido à colonização lusitana, o Brasil foi o único país do continente americano que recebeu além das raças espanholas as raças portuguesas. Assim que chegaram ao Brasil, os bovinos desembarcados em São Vicente foram irradiados para os campos sulinos, Goiás e o Vale do São Francisco (Minas e Bahia) chegando também até o Piauí e o Ceará. A seleção natural destes rebanhos atuando em ambientes extremamente variáveis em todo o país, juntamente com os eventos recorrentes da miscigenação destas raças levaram ao desenvolvimento das raças adaptadas a uma ampla gama de ambientes com níveis excepcionais de variabilidade fenotípica e melhor adequação às condições locais. No Nordeste do país surgiu o bovino Curraleiro Pé-Duro, que migrou para Minas Gerais e Goiás. No Sudeste desenvolveu-se o Junqueira e o Franqueiro, além das raças Caracu e Mocho Nacional. No Sul, formou-se o Crioulo Lageano e no Pantanal, o bovino Pantaneiro¹².

O gado que deu origem ao Curraleiro (*Bos taurus ibericus*), também conhecido como Pé-Duro, foi trazido da Península Ibérica para o Brasil, pelos portugueses, na época do descobrimento. Os animais introduzidos em Pernambuco e na Bahia eram originários da Ilha da Madeira e Cabo Verde e poderiam ter sido portadores de genes zebuínos (*Bos indicus*) africanos ou ainda tê-los recebido após a chegada ao continente americano. O Curraleiro Pé-Duro (CPD) passou por um processo de seleção natural e adaptação às condições tropicais, originando animais adaptados aos biomas onde foram submetidos, sendo bem adaptados ao

trópico quente e seco não mudando suas medidas fisiológicas no decorrer do dia e do ano, apesar das altas temperaturas do ambiente onde são criados. Atualmente, animais desta raça estão presentes no Pará, Maranhão, Piauí, Goiás e em Tocantins. Os criadores ressaltam a rusticidade, adaptabilidade, resistência, baixo custo de produção e a baixa exigência nutricional como qualidades indiscutíveis desses animais⁶⁸.

Os bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro têm suas características fenotípicas, sendo animais com altura mínima de 1,24 m e peso mínimo de 380 kg para os machos e 1,38 m e 300 kg para as fêmeas, possuem a cabeça pequena, chifres curtos e pelagem amarelada. As fêmeas são boas produtoras de leite, e a carne tem boa aceitação na pecuária de corte pelo seu sabor e qualidade, tornando o CPD com dupla aptidão. Os criadores ressaltam a rusticidade, adaptabilidade, resistência, baixo custo de produção e a baixa exigência nutricional como qualidades indiscutíveis desses animais⁶⁹.

2.11. Resistência do bovino Curraleiro Pé-Duro

A resistência do gado Curraleiro Pé-Duro a doenças é um atributo particularmente importante nos sistemas de produção e a sanidade pode ser um fator limitante na sustentabilidade desses sistemas. A possibilidade de aumentar a resistência genética a doenças em um rebanho é bastante viável aplicando-se técnicas simples, como a inclusão de raças naturalizadas nos programas de melhoramento genético⁶⁸.

Os bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro são completamente adaptados ao clima tropical, às pastagens naturais do Nordeste, em especial, ao semi-árido com sua vegetação de caatinga. Também sendo tolerante a altas temperaturas, a parasitas e até às ingestões tóxicas, como a erva-de-rato (*Palicourea marcgravii*) que intoxicam os animais das outras raças⁶⁹.

Pesquisa realizada com CPD, em exposição contínua aos vetores e agentes que transmitem a babesiose se mostrou em situação de estabilidade enzoótica, sem que houvesse interferência do controle químico. A relação de fatores climáticos, ambientais e o processo de seleção natural de aproximadamente 500 anos associado a interferência fisiológica da imunidade do hospedeiro vertebrado, pode ter sido determinante para essa resistência a babesia¹¹.

Estudo realizado com CPD e Nelore com a finalidade de avaliar a resposta imune do hospedeiro após vacinação com *Mycobacterium bovis* – BCG, mostrou que a raça CPD quando comparada a raça Nelore obteve melhor capacidade de induzir a resposta imune específica à vacina, indicando o perfil de resistência da raça CPD^{70,71}.

Um trabalho avaliando hemograma e função fagocitária de leucócitos de vacas de da raça CPD e mestiça, mostrou que a raça naturalizada brasileira apresentou maior eficiência na construção da resposta imune inata, tida como primeira linha de defesa do organismo contra patógenos e apresentaram maior homogeneidade na etapa de ingestão da fagocitose⁷².

Estudos avaliando a resistência dos bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro e outras raças, a fim de comprovar sua resistência a plantas tóxicas consideradas mortais como a *Palicourea marcgravii* (erva-de-rato), apresentou um menor índice de mortes dos bovinos CPD quando comparados a bovinos das raças Nelore e Pantaneiro tendo o indicativo de maior resistência⁷³.

Diante de todos esses resultados existem fortes razões para a inclusão de características genéticas no controle estratégico das doenças, particularmente frente as diversas limitações impostas pelos modelos de produção sustentáveis. Existem evidências bem documentadas de variação dentro e entre raças em termos de suscetibilidade a muitas doenças importantes e, em vários casos, essas características foram incorporadas aos programas de melhoramento genético. No entanto, os estudos sobre a genética da resistência e tolerância às doenças nos bovinos são limitados em termos de doenças, raças e espécies investigadas. Se as raças se extinguirem antes que suas características de resistência a doenças tenham sido identificadas, recursos genéticos que poderiam contribuir significativamente para melhorar a saúde animal e a produtividade serão perdidas para sempre⁷⁴.

Referências

1. Bassi PB, de Araújo FF, Garcia GC, Vinícius da Silva M, Oliveira CJF, Bittar ER, et al. Parasitological and immunological evaluation of cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Exp Parasitol* . 2018 Feb;185:98–106.
2. Batista JS, Bezerra FSB, Lira RA, Carvalho JRG, Rosado Neto AM, Petri AA, et al. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesqui Veterinária Bras* . 2008 Jan;28(1):63–9.
3. Bastos TSA, Faria AM, Madrid DM de C, Bessa LC de, Linhares GFC, Fidelis Junior OL, et al. First outbreak and subsequent cases of *Trypanosoma vivax* in the state of Goiás, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2017 Jun 29;26(3):366–71.
4. Maudlin I. The Trypanosomiasis. Maudlin I, Holmes PH, Miles MA, editors. Wallingford: CABI; 2003. 613 p.

5. Dagnachew S, Tessema MB. Review on *Trypanosoma vivax*. African J Basic Appl Sci. 2015;7(October 2016):41–64.
6. Silva RAMS, Seidl A, Ramirez L, Dávila AMR. *Trypanossoma evansi* e *Trypanossoma vivax*: Biologia, diagnóstico e controle. Corumbá: Embrapa Pantanal; 2002. 137 p.
7. Linhares GFC, Filho F de CD, Fernandes PR, Duarte SC. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (Relato de caso). Ciência Animal Brasileira.
8. Osório ALAR, Madruga CR, Desquesnes M, Soares CO, Ribeiro LRR, Costa SCG da. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008 Feb;103(1):1–13.
9. Silva RAMS, Lima ES de S, Ramirez L. Quimioterapia das Tripanosomoses ocorrentes no Pantanal. Corumbá; 2004.
10. Ganyo EY, Boampong JN, Masiga DK, Villinger J, Turkson PK, Haematology of N'Dama and West African Shorthorn cattle herds under natural *Trypanosoma vivax* challenge in Ghana 2018, 7:314.
11. Juliano RS, Machado RZ, Fioravanti MCS, Andrade GM, Jayme V de S. Soroepidemiologia da babesiose em rebanho de bovinos da raça Curraleiro. Ciência Rural. 2007 Oct;37(5):1387–92.
12. Felix GA, Piovezan U, Juliano RS, Silva MC da, Fioravanti MCS. Potencial de uso de raças bovinas locais brasileiras: Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro. Enciclopédia Biosf. 2013;9(16):1715–41.
13. Hoare CA. The Trypanosomes of Mammals. A Zoological Monograph. Oxford, England: Blackwell Scientific Publications; 1972. 749 p.
14. Gardiner PR. Recent Studies of the Biology of *Trypanosoma vivax*. In 1989. p. 229–317.
15. Silva RAMS, Seidl A, Ramirez L, Dávila AMR. *Trypanossoma evansi* e *Trypanossoma vivax*: Biologia, diagnóstico e controle. Corumbá: EMBRAPA; 2002. 137p.
16. Uilenberg G, Boyt WP. A field guide for The Diagnosis, Treatment and Prevention of African Animal Trypanosomosis. Rome: FAO/UN; 1998. 163 p.
17. Couto LFM. Avaliação in vitro e in vivo da eficácia de desinfetantes contra *Trypanosoma vivax*. Universidade Federal de Goiás; 2019.
18. Levine ND. Protozoan Parasites of Domestic Animals and Man. 2nd ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company; 1973. 406 p.
19. Leger M, Vienne M. Epizootie à trypanosomes chez les Bovidés de la Guyane française. 1919;(12):258–66.
20. Zapata A. La afección de los ganados llamada vulgarmente “huequera”, “secadera”, “cacho-hueco”. Rev Med Vet (Bogota). 1931;3(22):165–80.

21. Silva RAMS, Pellegrin AO, Lima ES de S, Ramirez L, Dávila AMR. Documentos 75: Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-grossense e Bolívia. Corumbá: Embrapa Pantanal; 2002.
22. Boulhosa J. Informação científica. Rio de Janeiro; 1946;21–26.
23. Shaw JJ, Lainson R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. Ann Trop Med Parasitol. 1972 Mar;66(1):25–32.
24. Pereira LJ, Abreu ACVV de. Ocorrência de *Tripanosomas* em bovinos e ovinos da região amazônica. Pesqui Agropecuária Bras. 1978;13(3):17–21.
25. Serra Freire NM. Oiapoque - outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. Rev Bras Med Vet. 1983;1(1):41–5.
26. Serra Freire NM. Reavaliação dos focos de *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) em bovinos e bubalino do Território Federal do Amapá (TFA). Rev da Fac Veterinária da UFF. 1983;1(1):41–5.
27. Silva RA, da Silva JA, Schneider RC, de Freitas J, Mesquita D, Mesquita T, et al. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996;91(5):561–2.
28. Silva RAMS, Davila AMR, Ramirez L., Pellegrin AO. Abortions caused by *T. vivax* in bovines from the Pantanal of Poconé, MT, Brazil. In: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 1997. p. 123.
29. Batista JS. Tripanossomíase por *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) na Paraíba: descrição de um surto em bovinos e reprodução experimental da doença em ovinos. Universidade de São Paulo; 2005.
30. Feitosa Júnior AB, Guerra RMSNC, Santos HP, Abreu-Silva AL. Registro e morfometria de *Trypanosoma vivax* em esfregaço sanguíneo de bovino no município de Itapeturu-Mirin, Maranhão. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. 2004. p. 232.
31. Linhares GFC, de Carvalho Dias Filho F, Fernandes PR, Duarte SC. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). Ciência Animal Brasileira. 2006;7(4):455-60.
32. Carvalho AU, Abrão DC, Filho EJF, Paes PRO, Ribeiro MFB. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. Arq Bras Med Veterinária e Zootec. 2008;60(3):769–71.
33. Clarkson MJ. Trypanosomiasis of domesticated animals of South America. Seminar on Trypanosomiasis - Species of the subgenus and their potential usefulness. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1976;70(2):125–6.
34. Pimentel D de S, do Nascimento Ramos CA, Ramos RA do N, de Araújo FR, Borba ML, da Gloria Faustino MA, et al. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. Vet Parasitol. 2012 Apr;185(2–4):286–9.
35. Madruga CR. Epidemiologia do *Trypanosoma vivax* no Brasil. In: VIII Congresso

Brasileiro de Buiatria. 2009.

36. Costa RVC, Abreu APM, Machado MN, Thomé SMG, Massard CL, Santos HA, et al. Tripanossomíase em bovinos no estado do Rio de Janeiro. In: IX Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário. 2016. p. 161–3.
37. Vieira OLE, Macedo LO de, Santos MAB, Silva JABA, Mendonça CL de, Faustino MA da G, et al. Detection and molecular characterization of *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* in dairy cattle in the state of Sergipe, northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária*. 2017 Oct 30;26(4):516–20.
38. Batista JS, Moura GHF, Lopes FC, Paiva KAR de, Araújo Júnior HN de, Góis RC de S, et al. Risk factors for trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle raised in Rio Grande do Norte state. *Arq Inst Biol (Sao Paulo)*. 2018 Aug 2;85.
39. Paiva F, Lemos RAA, Oshiro AE, Salvador SC, Nakasato L. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 1997; 6:349.
40. Moloo SK, Gray MA. New observations on the cyclical development of *Trypanosoma vivax* in *Glossina*. *Acta Trop.* 1989; 4:167–172.
41. Cadioli FA, Barnabé P de A, Machado RZ, Teixeira MCA, André MR, Sampaio PH, et al. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária*. 2012 Jun;21(2):118–24.
42. Anosa VO. Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. *Zoonoses Public Hlth*. 1983;30(10):717-741.
43. Garcia HA, Ramírez OJ, Rodrigues CMF, Sánchez RG, Bethencourt AM, Pérez GDM, Minervino AHH, Rodrigues AC, Teixeira MMG. *Trypanosoma vivax* in water buffalo of the Venezuelan Llanos: An unusual outbreak of wasting disease in an endemic area of typically asymptomatic infections. *Vet parasitol*. 2016; 230:49-55.
44. Desquesnes M, Dia ML. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. *Vet Parasitol*. 2004 Jan 5;119(1):9–19.
45. Lopez G, Thompson K, Bazalar H. Transmisión experimental de *Trypanosoma vivax* por la garrapata *Boophilus microplus*. *Rev ICA*. 1979; 14:93-6.
46. Fidelis Junior OL, Sampaio PH, Machado RZ, André MR, Marques LC, Cadioli FA. Evaluation of clinical signs, parasitemia, hematologic and biochemical changes in cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2016;25(1):69-81.
47. Cadioli FA. *Trypanosoma vivax* em rebanhos bovinos. [Tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária; 2015.
48. Andrade Neto AQA, Afonso JAB, Mendonça CL, Souto RJC, André MR, Machado RZ. Surtos de tripanossomíase em bovinos leiteiros no agreste dos estados de Pernambuco e Alagoas. *Biol suppl* 2;2015.1(77):143.
49. Betancourt AE. Studies on the epidemiology and economic importance of *Trypanosoma*

- vivax ziemann*, 1905 in Colombia. [Tese]. Texas A and M University; 1978.
50. Silva RAMS. Abortos por *Trypanosoma vivax* no pantanal mato-grossense e bolívia. Corumbá: Embrapa Pantanal; 2004. 21p.
 51. Silva TM, Olinda RG, Rodrigues CM, Camara AC, Lopes FC, Coelho WA, Ribeiro MF, Freitas CI, Teixeira MM, Batista JS. Pathogenesis of reproductive failure induced by *Trypanosoma vivax* in experimentally infected pregnant ewes. Vet Res. 2013;44(1):1-9.
 52. Maudlin I, Holmes PH, Miles MA. The Trypanosomiasis. CABI Publishing, Wallingford, UK., pp: 1-613. 2004.
 53. Seifert HSH. Tropical Animal Health. 2nd ed. Dordrecht; Boston: Kluwer Academic Publishers; 1996. 548 p.
 54. 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. Vet Parasitol. 2007 Jan;143(2):174–81.
 55. Betancur Hurtado OJ, Jimenez Castro PD, Giraldo-Ríos C. Reproductive failures associated with *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. Vet Parasitol. 2016 Oct;229:54–9.
 56. Madruga CR. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanosoma (Duttonella) vivax* no Brasil. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses. 2004. p. 46–7.
 57. Woo PT. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. Acta Trop. 1970;27(4):384–6.
 58. Wilson AJ. Value of the indirect fluorescent antibody test as a serological aid to diagnosis of glossina-transmitted bovine trypanosomiasis. Tropical Animal Health and Production. 1969;1(2):89-95.
 59. Masake RA, Nantulya VM, Pellé R, Makau JM, Gathuo H, Ole-MoiYoi OK. A species-specific antigen of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* detectable in the course of infection is encoded by a differentially expressed tandemly reiterated gene. Mol Biochem Parasitol. 1994 Apr;64(2):207–18.
 60. Fleming JR, Sastry L, Wall SJ, Sullivan L, Ferguson MAJ. Proteomic identification of immunodiagnostic antigens for *Trypanosoma vivax* infections in cattle and generation of a proof-of-concept lateral flow test diagnostic device. PLoS neglected tropical diseases. 2016;10(9): e0004977.
 61. Zarlenga DS, Higgins J. PCR as a diagnostic and quantitative technique in veterinary parasitology. Vet Parasitol. 2001 Nov 22;101(3–4):215–30.
 62. Desquesnes M, Dia ML. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. Vet Parasitol. 2004 Jan 5;119(1):9–19.
 63. Bastos TSA, Aspectos Clínico-epidemiológicos e tratamento da tripanossomose bovina por *Trypanosoma vivax* no estado de Goiás. [Tese] Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019.

64. Batista JS, Rodrigues CM, Olinda RG, Silva TM, Vale RG, Câmara AC, Rebouças RE, Bezerra FS, García HA, Teixeira MM. Highly debilitating natural *Trypanosoma vivax* infections in Brazilian calves: epidemiology, pathology, and probable transplacental transmission. *Parasitol Res.* 2012;110(1): 73-80.
65. Peregrine AS. Chemotherapy and delivery systems: haemoparasites. *Vet Parasitolol.* 1994; 54:223–248.
66. Adams LG. Clinicopathological aspects of imidocarb dipropionate toxicity in horses. *Res Vet Sci.* 1981;31(1):54-61.
67. Andrade SF, Santarém VA. Endoparasitídeos e ectoparasitídeos. Manual de terapêutica veterinária. 2nd ed. São Paulo: Roca; 2002;437-476.4
68. Gibson JP, Bishop SC. Use of molecular markers to enhance resistance of livestock to disease: a global approach. *Rev Sci Tech.* 2005 Apr;24(1):343–53.
69. Costa MFO, Egito AA do, Fioravanti MCS, Juliano RS. Qualidade da carne: Podemos evitar a extinção de raças bovinas naturalizadas?. Corumbá; 2011.
70. Maggioli MF, Comparação da resposta imune induzida pela vacinação de bezerros Curraleiro e Nelore com *Mycobacterium bovis* - BCG. [Tese] Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.
71. Lobo JR, Resposta imune inespecífica e específica humoral de bezerros Curraleiro e Nelore vacinados com *Mycobacterium bovis* - BCG. [Dissertação] Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.
72. Juliano RS, Aspectos sanitários e do sistema de fagócitos de bovinos da raça Curraleiro. [Tese] Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.
73. Serodio JJ. Resistência das raças bovinas nelore, curraleiro-pé-duro e pantaneiro a intoxicação experimental por *palicourea marcgravii* a. St. Hil. Universidade Federal de Goiás; 2013.
74. FAO. La Situación de los Animal Genetic Resources Mundiales para la Alimentación y la Agriculture. Rome, Italy: FAO, 2010.

CAPÍTULO 2 - Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro

(Capítulo formatado de acordo com as normas da Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária)

Experimental *Trypanosoma vivax* infection in Curraleiro Pé-Duro cattle

Abstract – In the experimental *Trypanosoma vivax* infection in Curraleiro Pé-Duro cattle, six healthy male cattle with a minimum age of eight to 12 months and an average body weight of 98 to 165 kg were used. The experiment was divided into three phases: adaptation (10 days), inoculation and post-inoculation (74 days) in order to evaluate physical, hematological, biochemical and parasitological parameters. The results of the physical evaluations indicated hypothermia in the initial and final phase of the evaluations and hyperthermia on the 22nd day after inoculation. There was bradycardia in the first 15 days and 45 days after inoculation, while bradypnea and hypomotility were detected throughout the evaluations. In erythrogram there was a reduction in red blood cells, hemoglobin, globular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration (HCCM) and platelets characterizing a normocytic and hypochromic anemia. In the leukogram, leukopenia with neutropenia was identified. The bands, eosinophils, basophils, lymphocytes and monocytes did not differ because they were within the normal range. In the analysis of blood biochemistry data, changes were discrete and punctual for the following biochemical parameters: fibrinogen, total proteins, albumin, globulin, creatine kinase, glucose, creatinine, urea, total direct and indirect bilirubin. Aspartate aminotransferase (AST) activity decreased on days 18 to 60 post-inoculation and gama glutamyltransferase activity increased between days 67 and 74 post-inoculation, however, this increase was due to only two animals. Parasitaemia diagnosed for the Woo method and quantified by the Brener method showed to be intense in the early stage of the disease and throughout the evaluations there was a decrease in parasitemia peaks, leading no calf to death. The cattle after experimental inoculation had mild and punctual symptoms and survived the acute phase of the disease, establishing signs of tolerance in relation to *T. vivax*.

Index Terms: Experimental model, genetic resistance, hemoparasite, tolerance, trypanosomosis.

Resumo – Na infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em bovinos da raça Curraleiro Pé- Duro utilizaram seis bovinos machos, hígidos, com idade mínima entre de oito a 12 meses e peso corporal médio de 98 a 165 kg. O experimento foi dividido em três fases: adaptação (10 dias), inoculação e pós-inoculação (74 dias), a fim de avaliar parâmetros físicos, hematológicos, bioquímicos e parasitológico. O resultado das avaliações físicas apontou hipotermia na fase inicial e final das avaliações e hipertermia no 22º dia pós-inoculação. Houve bradicardia nos primeiros 15 dias e após 45 dias pós-inoculação, enquanto bradipnéia e hipomotilidade foram detectadas ao longo das avaliações. No eritrograma houve redução das hemácias, hemoglobina, volume globular, concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e plaquetas caracterizando uma anemia do tipo normocítica e hipocrômica. No leucograma identificou-se leucopenia com neutropenia. Os bastonetes, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos não obtiveram diferença pois estavam dentro dos parâmetros de normalidade. Na análise de dados das bioquímicas sanguíneas, as alterações foram discretas e pontuais para os seguintes parâmetros bioquímicos: fibrinogênio, proteínas totais, albumina, globulina, creatina quinase, glicose, creatinina, ureia, bilirrubina total, direta e indireta. Notou-se redução da atividade sérica da aspartato aminotransferase nos dias 18 a 60 pós-inoculação e elevação da gama glutamiltransferase entre os dias 67 e 74 pós-inoculação, porém, esse aumento foi decorrente da resposta de somente dois animais. A parasitemia diagnosticada pelo método de Woo e quantificada pelo de Brener se mostrou intensa no estágio inicial da doença e ao longo das avaliações houve diminuição dos picos de parasitemia não levando nenhum bezerro ao óbito. Os bovinos pós-inoculação experimental obtiveram sintomas brandos e pontuais e sobreviveram a fase aguda da doença, estabelecendo indícios de tolerância em relação ao *T. vivax*.

Termos de Indexação: Hemoparasito, modelo experimental, resistência genética, tolerância, tripanossomose.

Introdução

O agente etiológico da tripanosomose bovina é o hemoparasita *Trypanosoma vivax*, que causa hemoparasitose em ruminantes e vem assumindo grande importância econômica mundial pelo impacto negativo na pecuária. Ruminantes contaminados apresentam queda na produção de carne e leite gerando prejuízos (Bassi et al. 2018).

O *T. vivax* é originado da África e a primeira ocorrência relatada no Brasil foi em búfalos no estado do Pará em 1972. O parasita estava inicialmente restrito ao norte do país, mas com o passar dos anos foram sendo identificados surtos em outras regiões (Batista et al. 2008). Em Goiás o primeiro surto foi reportado em maio de 2015, em seguida outros cinco foram descritos e a disseminação da doença no estado foi ligada a introdução de animais de áreas endêmicas (Bastos et al. 2017).

Logo após a infecção do ruminante, o parasito entra nos gânglios linfáticos, passando depois para a corrente sanguínea, onde reproduz-se rapidamente de forma assexuada, por fissão binária. *T. vivax* invade os tecidos, causando dano tecidual em vários órgãos. O animal produz anticorpos contra o revestimento de superfície, no entanto, os tripanossomos possuem múltiplos genes, que codificam diferentes proteínas de superfície, permitindo que os organismos com novas glicoproteínas de revestimento não produzam resposta imunológica. Este processo produz a chamada "variação antigênica" e resulta na persistência do parasita no organismo do hospedeiro. A exata razão da morte dos animais parasitados não está totalmente compreendida (Dagnachew 2015).

Como os sinais clínicos são semelhantes a outras doenças como babesiose e anaplasmose, o diagnóstico é dificultado. Os achados clínicos inespecíficos são: febre, letargia, fraqueza, perda de peso progressiva, ataxia, anorexia, palidez de mucosa, aumento dos linfonodos, queda na produção de leite, aborto e morte. (Hoare 1972; Osório et al. 2008). A infecção por *T. vivax* pode ser diagnosticada por métodos parasitológicos diretos, como o Woo e esfregaço (Uilenberg et al., 1998, Woo 1970 e Wilson 1969); métodos indiretos como ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI); e os moleculares: reação em cadeia da polimeras (PCR) e amplificação isotérmica mediada por *loop* (LAMP) (Zapata 1931 e Silva et al. 2002). Existem três substâncias que possuem indicação para o tratamento da tripanossomíase bovina: diaceturato de diminazene, cloridrato isometamidium (Silva et al. 2002; Hurtado, Castro & Giraldo-Ríos 2016; Uilenberg 1998 e Bastos 2019) e dipropionato de imidocarb (Batista et al., 2012 e Peregrine 1994).

Na África existem duas raças locais de bovinos tripanotolerantes, o N'Dama e o *West African Shorthorn*, que são igualmente suscetíveis a infecção inicial por tripanosomas, mas possuem capacidade de sobreviver, reproduzir e permanecer em áreas de alto desafio com as moscas transmissoras, sem a necessidade do uso de substâncias químicas para controlar o vetor ou medicamentos para controlar o parasita, ao contrário de outras raças que sucumbem rapidamente a enfermidade (Ganyo et al., 2018).

Os hospedeiros podem, em princípio, empregar duas estratégias diferentes para se defender contra parasitas: a resistência e a tolerância. Animais normalmente apresentam considerável variação genética para resistência. No entanto, pouco se sabe sobre o desenvolvimento de tolerância. É importante fazer a distinção entre estes dois componentes, porque, por definição, a resistência tem um efeito negativo sobre parasitas, enquanto a tolerância não; como resultado, a sua importância relativa terá consequências substanciais para a ecologia e evolução das interações parasita-hospedeiro (Råberg et al, 2013). Um conceito muito próximo a tolerância é a resiliência, que pode ser definida como a manutenção da capacidade produtiva do animal frente a infecção (Bishop, 2012).

Diante da existência de bovinos de raças locais africanas tripanotolerantes, buscou-se avaliar raças bovinas locais brasileiras, quanto a possível existência de resistência ou tolerância ao *T. vivax*. O bovino Curraleiro Pé-Duro é uma das raças locais, com características de resistência e rusticidade, traduzidas pela capacidade de desenvolvimento frente a condições ambientais adversas (Fioravanti et al., 2011). Estudos indicam a presença de características ligadas a resistência ou tolerância a enfermidades como babesiose e a tuberculose (Juliano et al., 2007, Maggioli 2010 e Lobo 2009) e a intoxicação pela planta *Palicourea marcgravii* (Serodio et al., 2019).

Os bovinos Curraleiro Pé-Duro foram trazidos da Península Ibérica para o Brasil pelos portugueses na época do descobrimento, passaram por um processo de seleção natural e adaptação às condições do sertão brasileiro (cerrado e semi-árido nordestino). Atualmente, animais desta raça estão presentes nos estados de Goiás, Tocantins, Piauí, Bahia e Pará. Os criadores ressaltam a rusticidade, adaptabilidade, resistência, baixo custo de produção e a baixa exigência nutricional como qualidades indiscutíveis desses animais (Fioravanti et al., 2011).

Com esse estudo objetivou-se avaliar a resposta dos bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro frente a inoculação experimental do hemoparasita *Trypanosoma vivax*,

acompanhando os parâmetros físicos, hematológicos, bioquímicos e parasitológicos, verificando a existência de resistência ou tolerância.

Material e métodos

Comitê de Ética para Uso de Animais. O projeto foi aprovado, com o protocolo n°. 032/16, pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal para sua execução e elaboração de experimento.

Animais. Foram utilizados seis bezerros machos, hígidos, da raça Curraleiro Pé-Duro, identificados com brincos e numerados, com idade mínima de oito meses e máxima de 10 meses e peso corporal de 98 kg a 165 kg (134.6 ± 15.1 kg). O estudo foi realizado na Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia, Brasil. Os bovinos foram mantidos em piquetes coletivos de 7,7m X 10m e receberam água e feno tifton 85 (*Cynodon dactylon*) à vontade, além de ração (Confinamento®, Goiânia/GO) a 1% do peso vivo durante todo o período experimental.

Obtenção do inóculo. A cepa de *T. vivax* utilizada neste estudo foi um isolado de campo proveniente da cidade de Ipameri, denominado MK3902089 (Bastos et al., 2017) que atualmente é mantido criopreservado em nitrogênio líquido a -196°C (92% de sangue e 8% de glicerina), na UFG. Para a obtenção do inóculo utilizado no estudo, uma porção da amostra de sangue congelada com alta parasitemia foi descongelada em banho Maria a 37°C por cinco minutos. Após atestada a sua viabilidade, em microscópio óptico (40x100), foi então inoculada em um bovino utilizado como doador, que foi mantido no galpão de experimentação animal da UFG, em baias teladas. Cerca de aproximadamente quatro dias após a inoculação, o animal reservatório demonstrou elevada parasitemia (3.000.000 tripomastigotas/mL) na corrente sanguínea, cujas amostras foram colhidas para a realização da etapa *in vitro*.

Experimento. O experimento foi dividido em três etapas: adaptação (10 dias), inoculação e pós-inoculação (74 dias). Na adaptação fez-se avaliação física (temperatura retal, frequências respiratórias e cardíacas, motricidade ruminal, coloração das mucosas, peso e nível de consciência) e laboratorial (hemograma, fibrinogênio, aspartato aminotransferase [AST], gama glutamiltransferase [GGT], bilirrubinas, creatina quinase [CK], ureia, creatinina, albumina, globulina, proteína total e glicose) nos seguintes momentos: 0, 5 e 10 dias. A inoculação foi realizada utilizando seringas de 1 ml acopladas a agulhas com calibre (40x1,2)

com administração endovenosa de 1.000.000 de tripanossomatídeos. Durante os 45 dias pós inoculação, os animais foram monitorados diariamente por meio de exames físicos (mucosa, nível de consciência frequência cardíaca e respiratória, motricidade ruminal e temperatura retal) e semanalmente foram realizados os exames hematológicos, bioquímicas sanguíneas (ureia, creatinina, GGT, AST, bilirrubinas, glicose, CK, albumina, globulina, proteína total sérica), pesquisa do parasita pelo método de Woo e quantificação da parasitemia pelo método de Brenner. Após os 45 dias, os animais foram avaliados clinicamente a cada três dias e laboratorialmente semanalmente pelo período de 30 dias (Figura 1).

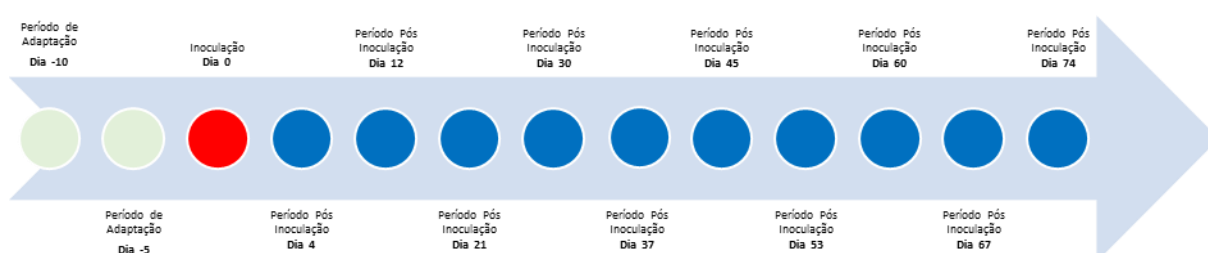


FIGURA 1 – Linha cronológica de estudo, indicando os dias de colheita de sangue para realização dos exames laboratoriais: hematológicos e bioquímicos. Os exames parasitológicos foram realizados diariamente

Exames físicos. O exame físico consistiu na aferição de parâmetros clínicos e no monitoramento da evolução clínica dos animais. Os parâmetros clínicos avaliados foram: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), movimentos ruminais (MR), temperatura corporal (TC), coloração das mucosas, peso e nível de consciência. Foram realizados no período de adaptação e pós inoculação dos animais. A aferição dos parâmetros clínicos permitiu o monitoramento da evolução clínica.

Exames hematológicos e bioquímicos. Os exames hematológicos e bioquímicos foram realizados durante o período de adaptação e após a inoculação experimental. As amostras de sangue foram colhidas da veia jugular em sistema a vácuo, em três tubos de aproximadamente 4mL, sendo um tubo sem anticoagulante protegido da luz ambiente por papel alumínio, outro tubo com EDTA e o último tubo com fluoreto de sódio. Os parâmetros hematológicos, avaliados em equipamento automatizado BC-2800VET (Mindray®), foram a contagem total de hemácias (ERI), hemoglobina total (HGB), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), contagem total de plaquetas (PLQ) e contagem total de leucócitos (LEU). O hematócrito (HCT) e a contagem diferencial de leucócitos (LEU) serão processados rotineiramente de forma manual, sendo

destacados a contagem diferencial de neutrófilos segmentados (SEG), contagem diferencial de linfócitos (LIN), contagem diferencial de eosinófilos (EOS) e a contagem diferencial de monócitos (MONO). O fibrinogênio (FIB) foi quantificado por meio da técnica de precipitação no tubo de microhematócrito a 56°C e a proteína plasmática total (PROT) por refratometria. Os parâmetros bioquímicos, mensurados por reagentes comerciais (Labtest®) e analisados automaticamente em equipamento CM 200 (Wiener Lab®), foram gama glutamiltransferase (GGT), bilirrubina total (BLIT), bilirrubina direta (BLID) e indireta (BILI), creatinina (CREA), ureia (UR), glicose (GLI), aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK), albumina e globulina.

Pesquisa do parasita por métodos diretos. Para a pesquisa direta do parasito na amostra sanguínea, foi utilizado o método de Woo, que consistiu na homogeneização da amostra de sangue, preenchimento $\frac{3}{4}$ do tubo capilar, encostando uma de suas extremidades no sangue. Ao final do preenchimento o capilar teve a extremidade a que entrou em contato com o sangue selada. Em seguida foi centrifugado por 5 minutos, e levado ao microscópio para pesquisa direta de tripanossomatídeos móveis, na região entre a papa de hemácias e o plasma sanguíneo (Woo, 1970). Foram confeccionados esfregaços sanguíneos para a verificação de *T. vivax*, *Anaplasma marginale* e *Babesia bovis* e *B. bigemina*.

Quantificação do número de parasitas. A contagem de tripanossomatídeos por mL foi feita pelo método de Brener, que consistiu na colocação de 5 µl de sangue em lâmina, cobertura da gota com lamínula de 22x22, para a distribuição do sangue. Na sequência, por microscopia direta, foram contados o número de parasitos em 50 campos microscópicos. O número encontrado foi multiplicado pelo fator de correção (38.000) indicando a contagem final do número de parasitas por mL (Brener 1961).

Análise de dados. O estudo foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo. As variáveis numéricas foram avaliadas quanto a normalidade (Teste de Shapiro Wilk) e homocedasticidade (Teste de Bartlett). Para as variáveis paramétricas de temperatura corporal, VCM, contagem total de leucócitos e contagem diferencial de linfócitos, AST, creatinina, ureia e globulinas foram comparados entre o momento anterior à inoculação e após a inoculação pelo Teste t de Student para dados pareados. Para as demais variáveis classificadas como não paramétricos comparou-se entre o momento anterior à inoculação e após a inoculação pelo Teste de Wilcoxon. Foi adotado nível de 0,05 de significância em todos os testes. Foi utilizado o auxílio do software R (Core Development Core Team, 2019).

RESULTADOS

Dois animais demonstraram leve apatia e mucosas levemente pálidas nos primeiros 11 dias após-inoculação (DAI), enquanto os demais bezerros mantiveram hígidos.

Os animais apresentaram hipotermia com diferença significativa ($p < 0,05$) nos primeiros 15 e no 35 DAI. Hipertermia foi identificada em 5 animais somente no 22° DAI com diferença significativa ($p < 0,05$). A partir do 20° ao 30° DAI, todos os animais mantiveram a temperatura corporal dentro dos valores de referência (Figura 2).

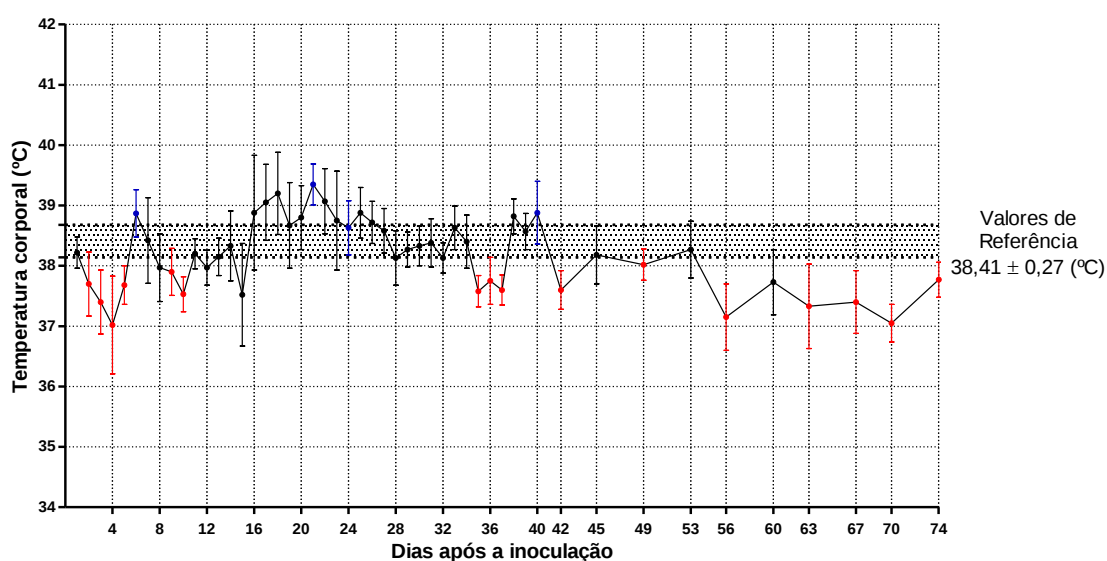
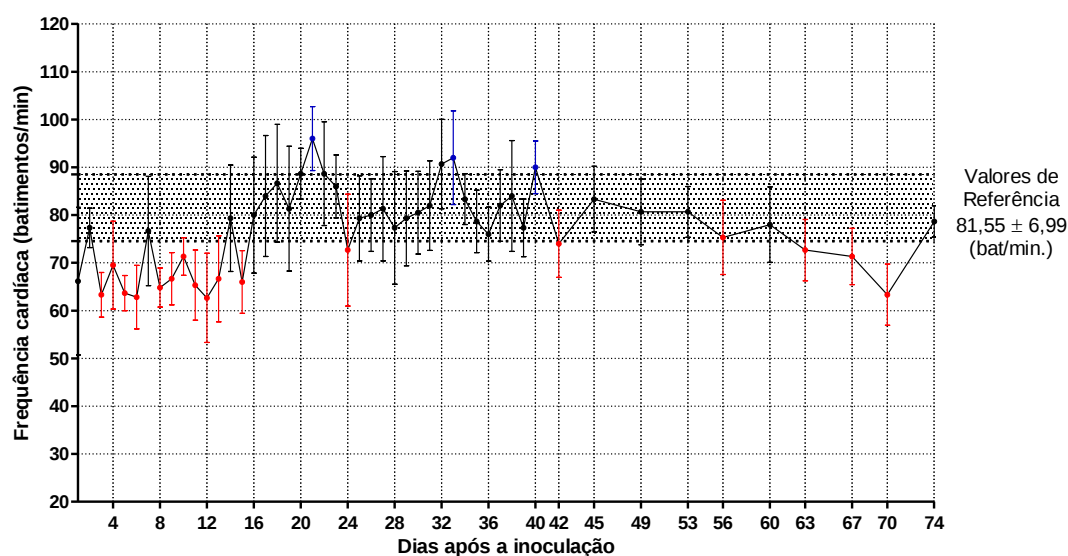
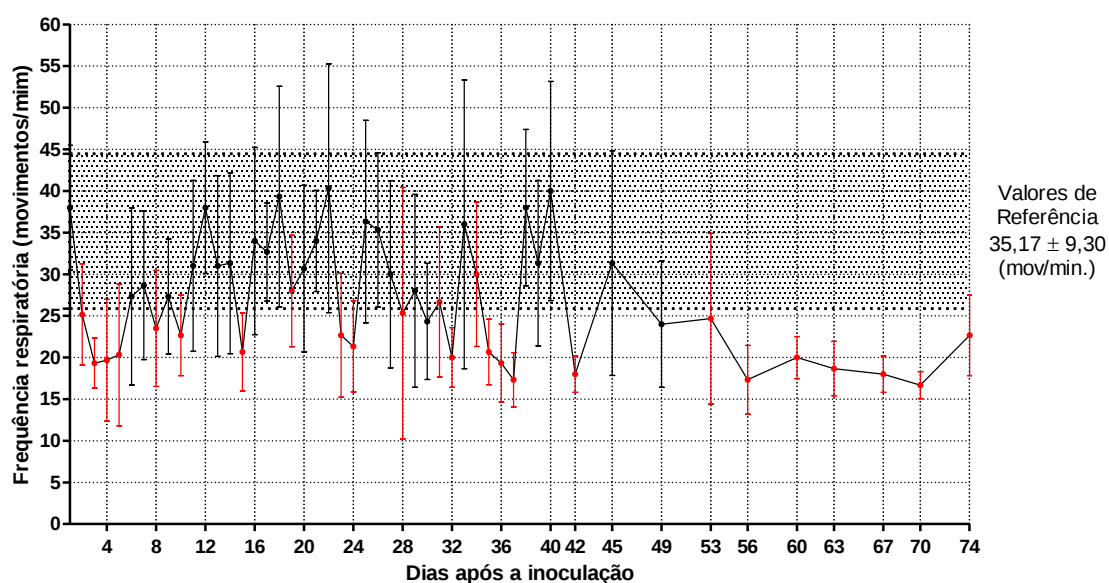


Fig. 2. Valores médios e desvio padrão de temperatura corporal (°C) durante 74 dias pós-inoculação. A presença do asterisco indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p < 0,05$), pelo teste t de Student para dados pareados.

Nas avaliações de frequência cardíaca dos bovinos infectados (Figura 3) notou-se bradicardia em somente um animal nos primeiros 15 DAI e nos últimos 20 DAI com diferença significativa ($p < 0,05$).



Nos primeiros cinco dias, entre 33 e 37 dias e a partir 53 DAI identificou-se bradpnéia (Figura 4) em todos os bezerros infectados com diferença significativa ($p < 0,05$). Hipomotilidade ruminal (Figura 5) foi observada em todos os bezerros pós-inoculação com diferença significativa ($p < 0,05$).



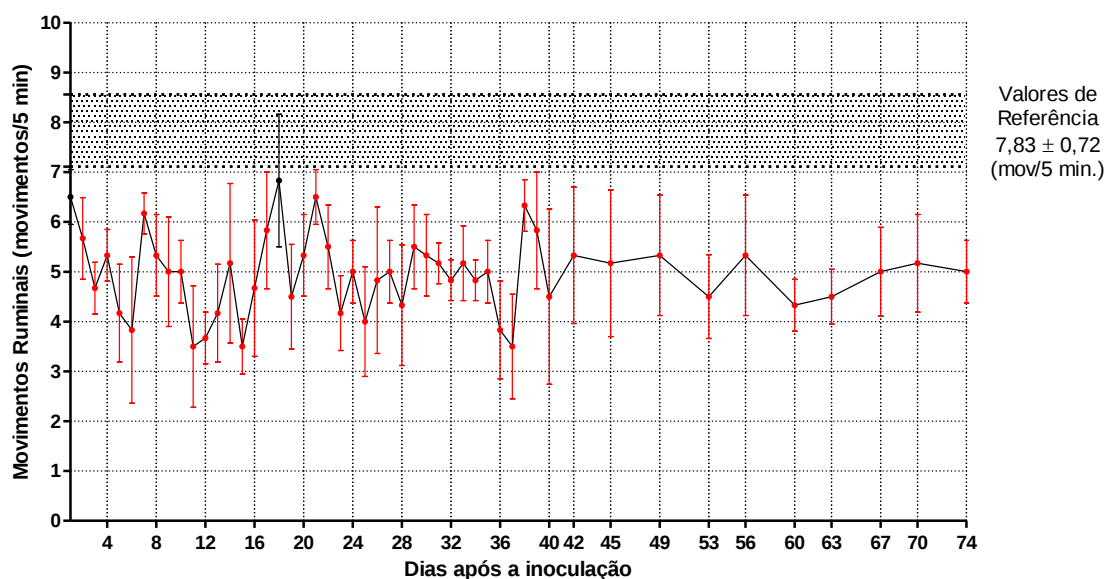


Fig. 5. Valores médios e desvio padrão de movimentos ruminais (movimentos por 5 min.) durante 74 dias após a inoculação. A presença do asterisco indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p < 0,05$), pelo Teste de Wilcoxon.

No eritrograma houve uma redução nas hemácias, hemoglobina, volume globular (hematócrito), CHCM e plaquetas com diferença estatística ($p < 0,05$) em todo o período de avaliação após-inoculação. A anemia apresentada por todos os bezerros é do tipo normocítica hipocrômica, visto que, os valores da concentração de hemoglobina corpuscular média estão abaixo do valor de referência (Tabela 1). No leucograma identificou-se leucopenia e neutropenia com diferença significativa ($p < 0,05$) nos seguintes dias pós-inoculação: 11, 18, 25, 32 e 60. As alterações relatadas na série branca foram pontuais e somente em dois animais (14 e 15). Os bastonetes, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos estavam dentro dos parâmetros de normalidade (Tabela 2).

De acordo com a análise de dados das bioquímicas, as alterações foram discretas e pontuais para os seguintes parâmetros bioquímicos: fibrinogênio, proteínas totais, albumina, globulina, CK, glicose, creatinina, ureia, bilirrubina total, direta e indireta (Tabela 3). Notou-se redução da concentração da AST nos dias 18 a 60 DAI, porém não houve diferença estatística ($p > 0,05$). A concentração da GGT (gamaglutamiltransferase) aumentou com diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias 67 e 74 DAI, porém, esse aumento ocorreu em somente dois animais o 14 e 15 (Tabela 4).

Os primeiros tripomastigotas detectados pela técnica de Woo nos bovinos foram encontrados no 5º dia pós inoculação e ao longo dos 74 dias avaliados. Houve alguns momentos (1,2,3,4,17,35,36,37,42,45,49,53,56,60,63,67,70 e 74) pós-inoculação que o parasita não foi detectado e o pico da parasitemia foi com 12 DAI. As lâminas de esfregaço não detectaram anaplasma e babesia. Pela técnica de Brener, os primeiros *T. vivax* foram detectados no sexto dia pós-inoculação nos animais 9, 11,13,14,15 (encontrando $4,5 \times 10^6$ de tripomastigotas), somente no animal 12 que o parasita foi diagnosticado no quinto dia pós-inoculação ($1,9 \times 10^5$ tripomastigotas). Nota-se na figura 5 os picos de parasitemia juntamente com a temperatura e hematócrito do animal ao longo do estudo com os bovinos.

DISCUSSÃO

Os sinais clínicos apresentados pelos animais do presente estudo foram pontuais e brandos e todos sobreviveram a inoculação experimental, realizadas por Dagnachew & Bezie (2015), Linhares et al. (2006) e Bastos et al. (2017) os sinais foram intensos e evidentes (febre alta e persistente, apatia, edema de barbel, queda na produção, aumento de linfonodos, lacrimejamento, perda de peso progressiva), levando vários animais á óbito.

No eritrograma dos animais observou-se um quadro brando de infecção pelo *T. vivax*, com queda na contagem de hemácias, hemoglobina, hematócrito, CHCM e plaquetas, indicando anemia normocítica hipocrômica. Anemia foi também relatada por vários pesquisadores (Silva et al. 1999, Fidelis Junior et al. 2016, Igbokwe e Anosa 1989) mas de forma mais intensa porque os animais também apresentaram mucosas oculares hipocoradas. Entretanto, a classificação do tipo de anemia identificada nos diferentes artigos foi diferente do presente trabalho, caracterizada como normocítica hipocrômica, os demais trabalhos foi encontrado anemia hipocrômica macrocítica.

A leucopenia e neutropenia identificada nos bovinos parasitados por *T. vivax* foi semelhante aos resultados obtidos por Espinosa & Aso (1992), Batista et al. (2006, 2008) e Paiva et al. (2000). Sugere-se que a leucopenia precoce observada no decurso da tripanossomose bovina pode ter sido influenciada por grandes quantidades de antígenos de tripanossoma (MACKENZIE et al., 1978) e pela liberação de neuraminidase pelos tripanosomas, durante esta fase da infecção. Suporte para este fato vem de que, logo após o declínio da parasitemia, os valores de leucócitos tendem a retornar aos da fase de pré-infecção e, em alguns casos, até mesmo a ultrapassar estes valores (ESIEVO et al.,1983) corroborando com os resultados do presente estudo.

Todas as análises de bioquímica (fibrinogênio, AST, GGT, bilirrubinas, CK, ureia, creatinina, albumina, globulina, proteína total e glicose) apresentaram resultados pontuais e discretas. Almeida et al. (2010) observaram valores dentro da normalidade, com um incremento da ureia nos animais infectados e uma diminuição na creatinina que condiz com o presente estudo. Kadima et al. (2000), avaliando bovinos experimentalmente infectados, obtiveram inicialmente valores de bilirrubina dentro da normalidade, seguido de aumento intermitente significativo, que pode ser indicativo de uma incapacidade progressiva do fígado para conjugar a bilirrubina eficazmente na circulação.

Kadima et al. (2000) e Batista et al. (2008), avaliaram bovinos e caprinos experimentalmente infectados pelo *T. vivax*, respectivamente, e obtiveram valores da glicose plasmática inferiores aos limites estabelecidos para as espécies. Segundo Katunguka-Rwakishaya et al. (1997) as investigações sobre os níveis de glicose no sangue em animais infectados com tripanossomas têm produzido resultados ambíguos. Katunga-Rwakishaya et al. (1996) observaram uma diminuição nos níveis de albumina e uma hiperglobulinemia. Sekoni et al. (1990) observaram um discreto decréscimo nos valores das proteínas plasmáticas totais de touros infectados experimentalmente com *T. vivax*, que atingiu valores mínimos na segunda semana pós-infecção.

A CK apresentou discreta e pontual diminuição ao longo do experimento corroborando Almeida (2007) e Moura et al. (2009) que encontraram valores diminuídos da atividade dessa enzima em infecções experimentais. Já Schenk et al. (2001) obtiveram alterações significativas dos valores da CK entre os grupos, mas estes permaneceram dentro da faixa de normalidade para a espécie.

O pico de parasitemia ocorreu no 12º DAI para todos os animais, mas no primeiro mês pós infecção ocorreram outros picos menores de parasitemia. Após esse período a parasitemia se tornou flutuante sendo detectados parasitas circulantes até por volta do 56º DAI. Resultados semelhantes de picos de parasitemia foram relatados por Fidelis Junior (2014). Esievo et al. (1983) detectaram pico de parasitemia no 11º DAI, após o qual a parasitemia diminuiu, sendo detectados parasitas até 66º DAI. Moraes 2001 observou parasitemias flutuantes e picos nos primeiros 30 dias, tendendo a zero após os 60 DAI, aproximadamente. No entanto Schenk et al. (2001) verificaram parasitemia apenas até o 30º DAI. Para Radostits et al. (2006), o parasita é detectado mais facilmente nos estágios iniciais da doença, quando o pico de parasitemia corresponde ao pico febril. Madruga (2002) relata que a persistência da parasitemia se deve, possivelmente ao mecanismo de evasão do protozoário pela variação antigênica das glicoproteínas variantes de superfície (GVS), e que

essa variação é responsável pela recorrência da parasitemia. Paiva et al. (1998) acreditava que a adaptação à forma de transmissão mecânica tenha diminuído a variação antigênica das GVS.

Nos esfregaços sanguíneos realizados diariamente ao longo dos 74 DAI, não foram identificados outros hematozoários, divergindo de outros pesquisadores (Bastos 2019, Gale et al 1996 e Lopes et al 2016) que detectaram anaplasma aos 22 dias após primo infecção experimental por *T. vivax*. A presença de *T. vivax*, *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* em bovinos, já foi relatada na Costa do Marfim por Yeó et al. (2017)

Os bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro apresentaram parasitemia ao *T. vivax* pós inoculação experimental, mas todos sobreviveram e as alterações clínicas e laboratoriais foram discretas e pontuais.

CONCLUSÃO

Os resultados indicam que os bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro têm indícios de tolerância a infecção experimental por *T. vivax*.

Referências

1. Almeida KS, Freitas FLC, Tebaldi JH, Alessi AC, Machado RZ, Nascimento AA. Alterações clínicas, histopatológicas e enzimáticas em ovinos infectados experimentalmente por *Trypanosoma vivax*. *Ciência Animal Brasileira*, v. 11, n. 3, p. 669-676, 2010.
2. Bassi PB, Araújo FF, Garcia GC, Silva MV, Oliveira CJF, Bittar ER, Gomes MS, Amaral LR, Silva MFC, Nascentes GAN, Junior VR, Martins Filho AO, Araújo MSS, Bittar JFF. Parasitological and immunological evaluation of cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. Volume 185, 2018, Pages 98-106.
3. Bastos TSA, Aspectos clínico-epidemiológicos e tratamento da tripanossomose bovina por *Trypanosoma vivax* no estado de Goiás. [Tese] Universidade Federal de Goiás, 2019.
4. Bastos TSA, Aspectos Clínico-epidemiológicos e tratamento da tripanossomose bovina por *Trypanosoma vivax* no estado de Goiás. [Tese] Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019.
5. Bastos TSA, Faria AN, Madrid DMC, Bessa LC, Linhares GFC, Junior OLF, Sampaio PH, Cruz BC, Cruvinel LB, Nicaretta JE, Machado RZ, Costa AJ, Lopes Wdz. First outbreak and subsequent cases of *Trypanosoma vivax* in the state of Goiás, Brazil. *Revista Brasileira Parasitologia Vet.* 2017.
6. Batista JS, Bezerra FSB, Lira RA, Carvalho JRG, Rosado Neto AM, Petri AA, Teixeira MMG. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2008(1):63-69.
7. Batista JS, Bezerra, FSB, Lira RA, Carvalho JRG, Rosado Neto AM, Petri AA, Teixeira MMG. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 63-69, 2008.
8. Batista JS, Riet-Correa F, Barbosa RC & Guerra JL. 2006. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26(1):31-37.
9. 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*. 2007;143(2):174-81.
10. Batista JS, Rodrigues CM, Olinda RG, Silva TM, Vale RG, Câmara AC, Rebouças RE, Bezerra FS, García HA, Teixeira MM. Highly debilitating natural *Trypanosoma vivax* infections in Brazilian calves: epidemiology, pathology, and probable transplacental transmission. *Parasitol Res.* 2012;110(1): 73-80.

11. Bishop, S. C. A consideration of resistance and tolerance for ruminant nematode infections. *Front Genet.* v.3, Article 168, 2012.
12. Brener Z. 1961. Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da Doença de Chagas. Belo Horizonte. Tese de Livre Docência-Faculdade de Odontologia e Farmácia da UFMG
13. Cadioli FA, Barnabé PdA, Machado RZ, Teixeira MCA, André MR, Sampaio PH, et al. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 2012;21(2):118-24.
14. Dagnachew S, Bezie M. Review on *Trypanosoma vivax*. *African Journal of Basic & Applied Sciences.* 2015;7(1):41-64.
15. Esievo KAN, Saror DI. Leukocyte response in experimental *Trypanosoma vivax* infection in cattle. *Journal of Comparative Pathology*, v. 93, n. 2, p. 165-169, 1983.
16. Espinosa E, Sandoval E, Mavare M, Gonzalez N & Rangel L 2000. Comparación de la serie eritrocítica y leucocítica en ovejas y cabras infectadas con *Trypanosoma vivax*. *Vet. Tropical* 1(25):29-39
17. Espinosa E. & Aso PM 1992. Valores hematológicos de bovinos infectados experimentalmente com um aislado venezolano de *Trypanosoma vivax*. Parte II. Leucócitos. *Revta Salud Animal* 14:41- 49
18. Felix GA, Piovezan U, Juliano RS, Silva MC da, Fioravanti MCS. Potencial de uso de raças bovinas locais brasileiras: Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro. *Enciclopédia Biosf.* 2013;9(16):1715–41.
19. Fidelis Junior OL, Sampaio PH, Machado RZ, André MR, Marques LC, Cadioli FA. Evaluation of clinical signs, parasitemia, hematologic and biochemical changes in cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 2016;25(1):69-81.
20. Gale KR, Leatch G, Vos AJ, Jorgensen WK. *Anaplasma marginale* effect of challenge of cattle with varying dosis of infected erythrocytes. *Int J Parasitol.* 1996;26(4):1417-20.
21. Ganyo EY, Boampong JN, Masiga DK, Villinger J, Turkson PK, Haematology of N'Dama and West African Shorthorn cattle herds under natural *Trypanosoma vivax* challenge in Ghana F1000 Research 2018, 7:314.
22. Hoare CA. The Trypanosomes of mammals. A zoological monograph. [Internet]. Oxford, England: Blackwell Scientific Publications; 1972. 749 p.
23. Hurtado OJB, Castro PDJ, Giraldo-Rios C. Reproductive failures associated with *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. *Veterinary parasitology.* 2016; 229:54-9.

24. Juliano RS, Machado RZ, Fioravanti MCS, Andrade GM, Jayme V de S. Soroepidemiologia da babesiose em rebanho de bovinos da raça Curraleiro. *Ciência Rural*. 2007 Oct;37(5):1387–92.
25. Maggioli MF, Comparação da resposta imune induzida pela vacinação de bezerros Curraleiro e Nelore com *Mycobacterium bovis* - BCG. [Tese] Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.
26. Lobo JR, Resposta imune inespecífica e específica humoral de bezerros Curraleiro e Nelore vacinados com *Mycobacterium bovis* - BCG. [Dissertação] Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.
27. Kadima KB, Gyang EO, Saror DI, Esievo KAN. Serum biochemical values of *Trypanosoma vivax*-infected cattle and the effects of lactose in saline infusion. *Veterinary Archives*, Heinzelova, v. 70, p. 67-74, 2000.
28. Katunguka-Rwakishaya E, Murray M, Holmes PH. The influence of supplementation with cotton seed cake on the resistance of Uganda goats to primary and secondary challenges with *Trypanosoma congolense* and on their response to treatment. *Veterinary Parasitology*, v. 70, n. 1-3, p. 67-76, 1997
29. Katunguka-Rwakishaya, E. Influence of *Trypanosoma congolense* infection on some blood inorganic and protein constituents in sheep *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, v. 49, n. 4, p. 311-314, 1996.
30. Linhares GFC, Filho F de CD, Fernandes PR, Duarte SC. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (Relato de caso). *Ciência Anim Bras*. 2006;7(4):455–60.
31. Lopes, W.D.Z., Martins, J.R.S., Soares, V.E., Teixeira, W.F., Cruz, B.C., Maciel, W.G., Felippelli, G., Carvalho, R.S., 2016. Aspectos da infecção por *Anaplasma marginale* em bovinos experimentalmente infectados. *Veterinária e Zootécnica*. 23: 272-284.
32. Mackenzie RK, Boyt WP, Nesham VW, Pirue E. The aetiology and significance of the phagocytosis of erythrocytes and leukocytes in sheep infected with *Trypanosoma congolense* (Brodén, 1904). *Research Veterinary Science*, London, v. 24, n. 1, p. 4-7, 1978.
33. Madruga CR. Epidemiologia do *Trypanosoma vivax* e aspectos da infecção em bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., Rio de Janeiro, 2002.
34. Moraes MAV. *Trypanosoma vivax*: Infecção experimental em bovinos (*Bos indicus*). 2001. 104 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2001.

35. Moura DM, Paneto JCC, Bittar ER, Bittar JFF. Perfil bioquímico de bovinos naturalmente infectados por *Trypanosoma vivax*. Ciência Animal Brasileira, Goiânia, p. 642-647, 2009. Suplemento 1, Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria.
36. Osorio AL, Madruga CR, Desquesnes M, Soares CO, Ribeiro LR, Costa SC. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World--a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008 Feb;103(1):1-13.
37. Paiva F, Lemos RAA, Nakazato L, Mori AE, Brum KB, Bernardo KC. Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanho infectado por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Sul-Matogrossense. Campo Grande: UFMS, 1998. 10 p.
38. Pellín CES, González FAG, Baldizán G, Linarez YFFM. Comportamiento parasitológico, clínico y hematológico en ovinos infectados experimentalmente con un aislado venezolano de *Trypanosoma vivax*. Veterinaria Tropical, v. 28, n. 1, p. 79-92, 2003.
39. Peregrine AS. Chemotherapy and delivery systems: haemoparasites. Vet Parasitolol. 1994; 54:223-248.
40. RÅBERG, L.; SIM, D.; READ, A. F. Disentangling genetic variation for resistance and tolerance to infectious diseases in animals. Science, v.318, p.812-814, 2007. DOI: 10.1126/science.1148526
41. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Veterinary medicine. 9. ed. London: W.B. Saunders, 2006. 1877 p.
42. Schenk MAM, Mendonça CL, Madruga CR, Kohayagawa A, Araújo FR. Avaliação clínico-laboratorial de bovinos nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, p. 157-163, 2001.
43. Sekoni VO, Saror DI, Njoku CO, Kumi-Diaka J, Opaluwa GI. Comparative hematological changes following *Trypanosoma vivax* and *Trypanosoma congolense* infection in Zebu bulls. Veterinary Parasitology, v. 35, n. 1-2, p. 11-20, 1990.
44. Serodio JJ, Castro LTS, Morais TL, Cunha RDS, Sant'Ana FJF, Juliano RS, Borges JRJ, Fioravante MCS, Cunha PHJ. Evaluation of the resistance of Nellore, Curraleiro Pe-Duro and pantaneiro cattle breeds by experimental intoxication of *Palicourea marcgravii*. Toxicon 168 (2019) 126-130.
45. Silva RAMS & Dávila AMR 2001. Bovine trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in the German Bush province, Bolivia. Parasitología al día 25(1-2):65-67.
46. Silva RAMS, Ramirez ESSLL, Souza SS, Ortiz AG, Pereira SR, Dávila AMR 1999. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian Wetlands. Vet. Parasitol. 85:87- 93.

47. Silva RAMS, Seidl A, Ramirez L, Dávila AMR. *Trypanossoma evansi* e *Trypanossoma vivax*: Biologia, diagnóstico e controle. Corumbá: EMBRAPA; 2002. 137p
48. Uilenberg G, Boyt WP. A field guide for The Diagnosis, Treatment and Prevention of African Animal Trypanosomosis. Rome: FAO/UN; 1998. 163 p.
49. Wilson AJ. Value of the indirect fluorescent antibody test as a serological aid to diagnosis of glossina-transmitted bovine trypanosomiasis. Tropical Animal Health and Production. 1969;1(2):89-95.
50. Woo PT. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. Acta Trop. 1970;27(4):384–6.
51. Yeó N, Karamoko Y, Soro D, Bi ZF, Okon AJL. Gagnon, B.G., 2017. Prevalence of *Trypanosoma*, *Babesia* and *Anaplasma* in cattle reared in the North of Côte d'Ivoire. International Journal of Biosciences. 10: 21-28.
52. Zapata A. La afección de los ganados llamada vulgarmente “huequera”, “secadera”, “cacho-hueco”. Revista de Medicina Veterinaria. 1931; 22:165-180.

LEGENDA DAS TABELAS

Tabela 1. Média e desvio padrão dos valores da contagem total de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, VCM, CHCM e contagem total de plaquetas de bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro inoculados avaliados por 74 dias.

Momentos (dias)	Hemácias	Concentração de Hemoglobina	Hematócrito	VCM	CHCM	Plaquetas
Período de Adaptação	7,02 ± 0,62	9,42 ± 0,82	29,72 ± 2,50	42,55 ± 2,22	70,15 ± 6,16	350,34 ± 88,60
11	5,64 ± 0,82*	7,27 ± 0,83*	22,67 ± 2,25*	40,48 ± 3,51	56,43 ± 8,21*	104,00 ± 20,14*
18	5,61 ± 0,63*	7,37 ± 0,78*	23,00 ± 2,61*	41,10 ± 3,58	56,10 ± 6,27*	91,33 ± 47,28*
25	5,13 ± 0,52*	6,83 ± 0,63*	21,32 ± 1,61*	41,80 ± 3,62	51,25 ± 5,21*	158,67 ± 59,05*
32	5,33 ± 1,21*	6,70 ± 0,65*	21,33 ± 2,50*	40,84 ± 4,80	53,25 ± 12,10*	183,33 ± 100,96*
39	5,02 ± 0,62*	6,67 ± 0,55*	20,67 ± 2,65*	41,24 ± 2,69*	50,20 ± 6,21*	227,67 ± 91,07*
46	4,91 ± 0,66*	6,63 ± 0,82*	21,17 ± 2,71*	43,21 ± 3,71	49,13 ± 6,62*	114,50 ± 89,31*
53	4,70 ± 0,66*	6,32 ± 0,71*	20,83 ± 2,32*	44,60 ± 4,58	47,03 ± 6,62*	184,33 ± 124,26*
60	4,89 ± 0,75*	6,68 ± 0,89*	21,83 ± 2,93*	44,90 ± 3,62*	48,85 ± 7,48*	207,83 ± 105,31*
67	4,60 ± 0,37*	7,70 ± 0,67*	23,17 ± 2,48*	50,34 ± 2,76*	46,00 ± 3,67*	170,33 ± 38,61*
74	5,20 ± 0,74*	6,93 ± 1,08*	23,33 ± 3,39*	44,87 ± 2,22	52,02 ± 7,41*	129,67 ± 75,50*

A presença do asterisco na mesma coluna indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p < 0,05$), pelo teste t de Student para dados pareados para VCM e pelo teste de Wilcoxon para os demais parâmetros.

Tabela 2. Média e desvio padrão dos valores de contagem total de leucócitos e contagem diferencial de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos de amostra de sangue bovinos avaliados por 74 dias.

Momentos (dias)	leucócitos totais	bastonetes	segmentados	eosinófilos	basófilos	linfócitos	monócitos
Período de Adaptação	12012 ± 2677	77 ± 51	2293 ± 591	399 ± 317	5 ± 12	9052 ± 2387	194 ± 64
11	6150 ± 1411*	41 ± 52	734 ± 368*	109 ± 135*	0 ± 0	5116 ± 1652*	151 ± 109
18	8417 ± 1411*	37 ± 90	968 ± 914*	73 ± 119*	0 ± 0	7125 ± 1733*	189 ± 104
25	9150 ± 2201*	175 ± 115	1288 ± 733*	175 ± 182	0 ± 0	7222 ± 1541	199 ± 223
32	10133 ± 2047*	117 ± 131	1830 ± 773	169 ± 113*	0 ± 0	7921 ± 1573	97 ± 86
39	10767 ± 3222	36 ± 58	1164 ± 638*	195 ± 140*	95 ± 231	9101 ± 2869	79 ± 133*
46	10683 ± 1411	19 ± 47	1435 ± 631*	273 ± 399	0 ± 0	8626 ± 1104	331 ± 331
53	10617 ± 2936	71 ± 121	607 ± 300*	173 ± 206*	0 ± 0	9722 ± 2684	43 ± 49*
60	10317 ± 3037*	40 ± 65	900 ± 576*	588 ± 294	0 ± 0	8509 ± 2738	279 ± 130
67	13217 ± 4172	0 ± 0*	2584 ± 1285	1217 ± 1516	0 ± 0	9726 ± 2929	412 ± 270
74	10817 ± 3172	36 ± 57	913 ± 478*	652 ± 635	0 ± 0	8847 ± 2224	266 ± 218

A presença do asterisco na mesma coluna indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p < 0,05$), pelo teste t de Student para dados pareados para contagem total de leucócitos e contagem diferencial. de linfócitos e pelo teste de Wilcoxon para os demais parâmetros.

Tabela 3. Média e desvio padrão dos valores de fibrinogênio, proteína plasmática total, albumina, globulina, CK e glicose de bovinos inoculados avaliados por 74 dias.

Momentos (dias)	Fibrinogênio	Proteína P. Total	Albumina	Globulina	CK	Glicose
Período de Adaptação	656 ± 142	6,7 ± 0,4	3,12 ± 0,28	3,53 ± 0,65	151,84 ± 21,01	64,06 ± 5,85
11	400 ± 179	7,2 ± 0,7	3,25 ± 0,27*	3,94 ± 0,71	95,17 ± 22,30*	54,17 ± 11,77*
18	667 ± 207	5,1 ± 0,5*	2,99 ± 0,25*	2,07 ± 0,37*	76,33 ± 33,14*	61,50 ± 4,59*
25	633 ± 197	6,9 ± 0,9	2,81 ± 0,40	4,04 ± 0,85	97,00 ± 39,16*	63,50 ± 8,50
32	333 ± 103*	5,9 ± 0,5	2,94 ± 0,28*	3,00 ± 0,55	130,83 ± 70,71	64,67 ± 6,80
39	567 ± 151	5,0 ± 2,5*	2,97 ± 0,23*	3,10 ± 0,56	130,83 ± 41,21	64,33 ± 4,46
46	400 ± 126*	7,1 ± 0,8	3,07 ± 0,23*	4,03 ± 0,94	118,33 ± 28,13	60,17 ± 4,17*
53	433 ± 234	6,5 ± 0,6	3,14 ± 0,24	3,35 ± 0,71	112,17 ± 23,74*	65,83 ± 6,05
60	567 ± 234	5,9 ± 0,4*	3,05 ± 0,23	2,89 ± 0,41*	119,67 ± 27,72	65,00 ± 5,18
67	433 ± 234	7,5 ± 0,7	2,38 ± 0,38*	5,15 ± 0,65*	128,00 ± 59,36	62,83 ± 4,54
74	656 ± 163	6,8 ± 0,4	2,84 ± 0,34*	3,91 ± 0,36	119,50 ± 14,92*	68,83 ± 7,31

A presença do asterisco na mesma coluna indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p < 0,05$), pelo teste t de Student para dados pareados para Globulina e pelo teste de Wilcoxon para os demais parâmetros.

Tabela 4. Média e desvio padrão dos valores da AST, GGT, creatinina, ureia e bilirrubinas diretas, indiretas e total de bovinos inoculados avaliados por 74 dias.

Momentos (dias)	AST	GGT	Creatinina	Ureia	Bilirrubina Total	Bilirrubina Direta	Bilirrubina Indireta
Período de Adaptação	75,33 ± 10,46	9,63 ± 2,07	1,34 ± 0,18	23,56 ± 4,47	0,20 ± 0,04	0,10 ± 0,05	0,12 ± 0,06
11	73,17 ± 19,32	9,39 ± 3,09	1,23 ± 0,14	28,67 ± 6,28*	0,76 ± 0,45*	0,53 ± 0,27*	0,36 ± 0,41
18	62,67 ± 21,19	9,64 ± 1,67	1,09 ± 0,07*	29,00 ± 5,87	0,10 ± 0,03*	0,09 ± 0,03	0,01 ± 0,02*
25	73,50 ± 12,86	9,78 ± 1,18	1,12 ± 0,16	21,33 ± 8,31	0,18 ± 0,20	0,16 ± 0,22	0,12 ± 0,18
32	77,33 ± 13,88	10,51 ± 1,37	1,13 ± 0,18	21,17 ± 7,49	0,36 ± 0,27	0,16 ± 0,18	0,27 ± 0,26
39	79,00 ± 19,89	9,87 ± 1,40	1,21 ± 0,23	19,00 ± 7,13	0,05 ± 0,01*	0,08 ± 0,03	0,00 ± 0,00*
46	83,83 ± 16,19	9,17 ± 1,69	1,09 ± 0,16*	31,50 ± 9,31*	0,36 ± 0,15*	0,09 ± 0,13	0,26 ± 0,12
53	84,50 ± 19,44	11,49 ± 1,55	1,18 ± 0,18	23,67 ± 3,72	0,06 ± 0,03*	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,02*
60	78,83 ± 14,62	10,70 ± 2,39	1,18 ± 0,12	22,83 ± 4,07	0,15 ± 0,07	0,12 ± 0,07	0,06 ± 0,05*
67	90,67 ± 15,13	14,50 ± 4,81*	0,95 ± 0,09*	27,67 ± 4,18	0,33 ± 0,14*	0,13 ± 0,12	0,22 ± 0,17
74	82,00 ± 11,97	15,60 ± 2,08*	1,16 ± 0,16	22,83 ± 4,58	0,85 ± 0,42*	0,61 ± 0,34*	0,26 ± 0,38

A presença do asterisco na mesma coluna indica diferença entre o momento e o período de adaptação ($p < 0,05$), pelo teste t de Student para dados pareados para AST, creatinina e ureia e pelo teste de Wilcoxon para os demais parâmetros.

LEGENDA DAS FIGURAS

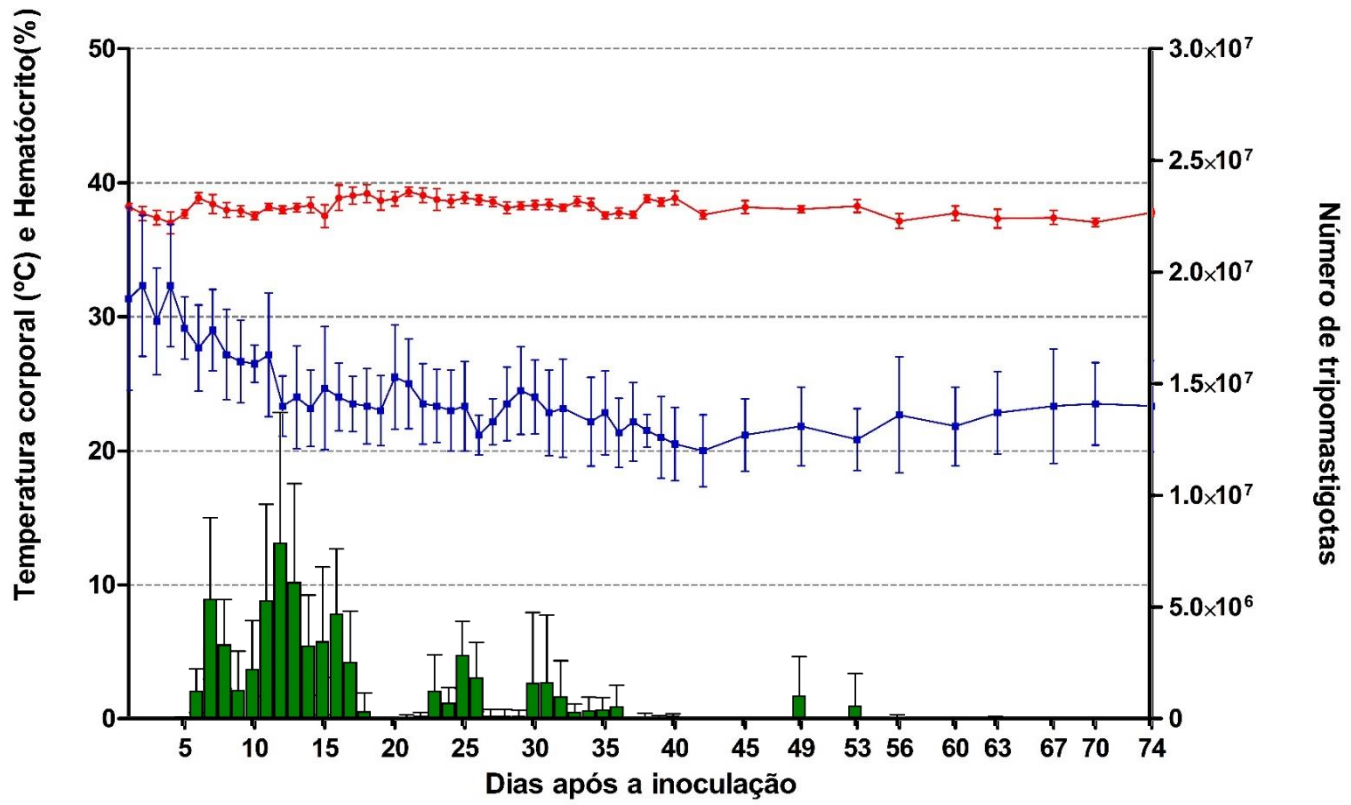


Fig. 6. Gráfico combinado das médias e desvio padrão de temperatura (°C) em vermelho, hematócrito (%) e contagem de tripomastigotas, durante 74 dias pós-inoculação.

CAPÍTULO 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve o intuito de indicar a raça Curraleiro Pé-Duro como resistente e resiliente a infecção por *T. vivax*, assim permitindo esses animais ao se adaptar a condições inóspitas criaram maior resistência e resiliência a afecções físicas e biológicas durante a seleção genética natural da raça.

Foi demonstrado que o *T. vivax* é capaz de infectar e desenvolver a doença em bezerros, demonstrando clínica leve e não houve a presença de *Anaplasma* e *Babesia* como co-infecção nos animais da raça Curraleiro Pé-Duro.

Este é o primeiro trabalho que descreve a presença de *T. vivax* em animais da raça Curraleiro Pé-Duro avaliando sinais clínicos, parasitemia, hematologia e bioquímica em bovinos experimentalmente infectados no Brasil.