

## 1 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE 2 BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*

## 3 4 SERUM HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF CATTLE 5 NATURALLY INFECTED BY *Trypanosoma vivax* 6

### 7 RESUMO

8 O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros bioquímicos séricos e hematológicos de  
9 bovinos naturalmente infectados por *Trypanosoma vivax*. Para isso, foram utilizadas  
10 amostras de sangue com anticoagulante EDTA K<sub>3</sub> e sem anticoagulante de 58 bovinos com  
11 suspeita de tripanossomose. Foram realizados os hemogramas e as dosagens bioquímicas  
12 séricas de proteínas totais, albumina, globulinas, relação albumina:globulinas, creatinina,  
13 ureia, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina e gama glutamiltransferase. A pesquisa  
14 parasitológica foi realizada pela técnica do microhematócrito, além de extensões  
15 sanguíneas da papa de leucócitos coradas pelo May-Grünwald-Giemsa. Para a análise  
16 estatística foram utilizados o Teste de Tukey e Teste de Mann-Whitney. Das 58 amostras,  
17 42 foram positivas e 16 foram negativas para formas tripomastigotas de *Trypanosoma*  
18 *vivax*. Uma anemia normocítica normocrômica foi observada nos animais positivos. A  
19 análise do leucograma revelou uma leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda e  
20 linfocitose nos animais negativos, com diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas contagens de  
21 leucócitos totais, monócitos e eosinófilos. Alterações significativas ( $p < 0,05$ ) foram  
22 observadas nas concentrações de albumina, relação albumina:globulinas, aspartato  
23 aminotransferase e gama glutamiltransferase. As alterações no eritrograma e nas  
24 concentrações bioquímicas séricas são condizentes com uma infecção crônica por *T. vivax*.  
25 Anemia e alterações no proteinograma foram os achados mais significantes.

26 **Palavras-chave:** Anemia, Hemograma, Leucograma, Tripanossomose.

### 27 28 ABSTRACT

29 The objective of this study was to evaluate hematological and serum biochemical  
30 parameters of cattle naturally infected with *Trypanosoma vivax*. 58 blood samples with  
31 anticoagulant EDTA K<sub>3</sub> and without anticoagulant from cattle with suspected  
32 trypanosomiasis were analyzed. Blood count and serum biochemical of total proteins,  
33 albumin, globulins, albumin:globulins ratio, creatinine, urea, aspartate transaminase (AST),  
34 alkaline phosphatase (FAL) and gamma glutamyltransferase (GGT) were performed.  
35 Parasitological research was performed using the microhematocrit technique and in blood  
36 smears of leukocyte slayer stained by May-Grünwald-Giemsa. Statistical analysis was  
37 analyzed by the Tukey Test and Mann-Whitney Test. Of the 58 samples, 42 were positive  
38 and 16 were negative for trypomastigote forms of *Trypanosoma vivax*. Normochromic  
39 normocytic anemia was observed in positive animals. Leukogram revealed neutrophil  
40 leukocytosis with left shift and lymphocytosis in negative animals, with significant  
41 differences ( $p < 0.05$ ) on the count of total leukocytes, monocytes and eosinophils.  
42 Significant changes ( $p < 0.05$ ) were observed in albumin, albumin:globulins ratio, aspartate  
43 transaminase and gamma glutamyltransferase. Changes in erythrogram and serum  
44 biochemical concentrations are consistent with chronic *T. vivax* infection. Anemia and  
45 changes in the proteinogram were the most significant findings.

46 **Keywords:** Anemia, Blood count, Leukogram, Trypanosomiasis.

## Introdução

48

49

50 Tripanossomíases são um conjunto de doenças provocadas por protozoários do gênero  
51 *Trypanosoma*, as quais são zoonoses e antropozoonoses de importância médico  
52 veterinária<sup>(1)</sup>. Dentre esses protozoários, destaca-se o *Trypanosoma vivax*, importante  
53 tripanosoma de bovinos que tem seu local de origem no Oeste da África, mas se adaptou à  
54 transmissão mecânica por insetos hematófagos, tais como *Stomoxys* spp. e *Tabanus* spp.  
55 Dessa forma, está presente em vários países da América do Sul, América Central e  
56 Caribe<sup>(2)</sup>.

57 O bovino naturalmente infectado por *T. vivax* apresenta vários sinais inespecíficos como  
58 febre, anorexia, aumento de linfonodos, redução da produção de leite, aborto e diarreia<sup>(3)</sup>.  
59 Os achados hematológicos incluem uma anemia hemolítica de origem imunomediada<sup>(4)</sup>,  
60 leucopenia<sup>(5)</sup> ou leucocitose<sup>(3)</sup>. Os parâmetros bioquímicos séricos normalmente não estão  
61 alterados<sup>(4,6)</sup>. É importante ressaltar que a infecção por *T. vivax* varia de acordo com o  
62 hospedeiro, o qual pode permanecer clinicamente normal por um longo período e  
63 contribuir com a disseminação da doença<sup>(7)</sup>.

64 Neste contexto, a tripanossomíase é de grande importância, pois causa consideráveis  
65 perdas econômicas na produção de leite, além de infertilidade e morte de animais  
66 afetados<sup>(8)</sup>. Assim, o objetivo deste trabalho é analisar os parâmetros hematológicos e  
67 bioquímicos séricos de bovinos naturalmente infectados por *T. vivax*, confrontando os  
68 valores de animais negativos e positivos na pesquisa parasitológica.

69

70

## Material e métodos

71

72 Foram utilizadas amostras de sangue com anticoagulante (EDTA K<sub>3</sub>) e sem anticoagulante,  
73 coletadas de 58 vacas leiteiras. Estas foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia  
74 Clínica Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, com  
75 suspeita de tripanossomose.

76 Das amostras coletadas com anticoagulante, foram realizados os hemogramas em  
77 analisador automático ABC Vet<sup>TM</sup>, e os seguintes parâmetros foram analisados: volume  
78 globular (VG), hematimetria (He), hemoglobinometria (Hgb), volume corpuscular médio  
79 (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina  
80 corpuscular média (CHCM), contagem de plaquetas e leucometria. A contagem diferencial

81 de leucócitos foi realizada em extensões sanguíneas coradas pelo método May-Grünwald-  
82 Giemsa. Foram identificadas e contadas 100 células e estabelecida a fórmula leucocitária  
83 relativa e absoluta <sup>(9)</sup>.

84 As amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas à 720G por 6 minutos, o  
85 soro obtido foi transferido para microtubos (Eppendorf) e congelados à - 20° C, por um  
86 período máximo de 48 horas até o momento das análises. Determinou-se em cada amostra  
87 de soro as concentrações de proteínas totais (PT), albumina (ALB), creatinina (CRE), ureia  
88 (URE), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL) e gama  
89 glutamiltransferase (GGT), em analisador automático multicanal Labmax Pleno,  
90 previamente calibrado (calibra H) e aferido com soro controle universal (Qualitrol),  
91 utilizando os kits comerciais da Labtest Diagnóstica®. A concentração sérica de globulinas  
92 (GLOB) foi calculada subtraindo o valor da albumina do valor das proteínas séricas totais,  
93 a relação albumina:globulinas (A:G) foi calculada dividindo o valor da albumina pelo das  
94 globulinas.

95 Para cada amostra de sangue com anticoagulante, um tubo de microhematócrito foi  
96 preenchido até aproximadamente 2/3 do seu volume total. A extremidade posterior foi  
97 selada com chama, e posteriormente centrifugado a 13552G por 5 minutos. A leitura para  
98 observação das formas de tripomastigota foi realizada em microscópio óptico na interface  
99 entre a papa de leucócitos e o plasma, em aumento de 100x e 400x<sup>(10)</sup>.

100 Após a leitura, os tubos de microhematócrito foram quebrados entre o plasma e a papa  
101 leucocitária (*Buffy Coat*) e confeccionados esfregaços, corados pelo método May-Grüwald-  
102 Giemsa e examinados em microscópio óptico com objetiva de imersão (aumento de 1000x)  
103 para a pesquisa do parasito<sup>(11)</sup>.

104 Os dados referentes à hematimetria, leucometria e bioquímica sérica foram tabulados e  
105 analisados com o auxílio do software IBM SPSS Statistics 21®. As médias dos valores que  
106 seguiam uma distribuição normal foram submetidas ao Teste de Tukey, e as que seguiam  
107 uma distribuição não gaussiana ao teste de Mann-Whitney, ambas ao nível de 5% de  
108 significância.

109

110

## Resultados

111

112 Das 58 amostras analisadas, 42 foram positivas e 16 foram negativas para pesquisa  
113 parasitológica da forma tripomastigota de *T. vivax*.

114 Os valores encontrados no eritrograma de bovinos positivos e negativos para *T. vivax* estão  
115 representados na Tabela 1.

116 Tabela 1. Valores médios, desvios padrão e valores de referência dos parâmetros do  
117 eritrograma de bovinos parasitologicamente positivos e negativos para *Trypanosoma vivax*.

Parâmetros analisados	Média ± Desvio Padrão		Valores de Referência*
	Positivos (n=42)	Negativos (n=16)	
<b>Hemácias (10<sup>6</sup>/μL)</b>	4,04 ± 1,1B	6,13 ± 1,3A	5 – 10
<b>Hgb (g/dL)</b>	6,3 ± 1,5B	9,1 ± 1,3A	8 – 15
<b>VG (%)</b>	18,6 ± 4,2B	28,1 ± 5,4A	24 – 46
<b>VCM (fL)</b>	47,0 ± 6,6A	46,1 ± 2,7A	40 – 60
<b>CHCM (fL)</b>	33,8 ± 2,4A	32,8 ± 2,3A	30 – 36
<b>Plaquetas (10<sup>3</sup>/μL)</b>	210,3 ± 136,0B	371,5 ± 173,8A	100 - 800

118 Letras maiúsculas diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes (p<0,05).  
119 \*MAHAFFEY<sup>(12)</sup>.

120 Observa-se que as médias dos índices hematimétricos volume corpuscular médio e  
121 concentração de hemoglobina corpuscular média não apresentaram diferença estatística  
122 (p>0,05), com maiores valores para os animais negativos. No entanto, os valores médios  
123 para hemácias, hemoglobina, volume globular e plaquetas diferiram significativamente  
124 (p<0,05), com valores menores nos animais positivos e abaixo dos de referência relatados  
125 por Mahaffey<sup>(12)</sup>, caracterizando um quadro de anemia, que pode ser classificada como  
126 normocítica e normocrômica. Pois os valores do volume corpuscular médio e concentração  
127 de hemoglobina corpuscular média, estão dentro do intervalo de referência<sup>(12)</sup>. As médias  
128 da contagem de plaquetas seguem os valores de referência determinados por Mahaffey<sup>(12)</sup>,  
129 apesar da diferença estatística (p<0,05) observada nos animais em estudo.

130 A tabela 2 mostra os dados relativos ao leucograma.

131  
132  
133  
134  
135  
136  
137  
138  
139  
140  
141

142 Tabela 2. Valores médios, desvios padrão e valores de referência do leucograma de  
143 bovinos parasitologicamente positivos e negativos para *T. vivax*.

Parâmetros avaliados	Média ± Desvio Padrão		Valores de Referência*
	Positivos (n=42)	Negativos (n=16)	
<b>Leucócitos (µL)</b>	8211,9 ± 4091,0B	12343,7 ± 7226,5A	4000 – 12000
<b>Bastonetes (µL)</b>	300,7 ± 193,7A	236,4 ± 231,9A	0 – 100
<b>Segmentados (µL)</b>	1878,3 ± 1015,8B	3055,9 ± 1080,1A	600 – 4000
<b>Eosinófilos (µL)</b>	375,9 ± 511,8B	936,7 ± 921,9A	600 – 2400
<b>Basófilos (µL)</b>	3,7 ± 17,5A	10,9 ± 43,7A	0 – 200
<b>Monócitos (µL)</b>	366,8 ± 300,9A	156,6 ± 146,2B	0 – 900
<b>Linfócitos (µL)</b>	5293,0 ± 3594,7A	7892,4 ± 6538,8A	2500 – 7500

144 Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam valores estatisticamente diferentes  
145 ( $p < 0,05$ ). \*MAHAFFEY<sup>(12)</sup>.

146 Pode-se constatar, através da análise da tabela 2, que as médias dos bastonetes, basófilos e  
147 linfócitos não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). As médias referentes aos  
148 leucócitos, neutrófilos segmentados, eosinófilos e monócitos apresentaram diferença  
149 significativa ( $p < 0,05$ ). Os maiores valores dos leucócitos, neutrófilos segmentados,  
150 eosinófilos, basófilos e linfócitos foram observados nos animais negativos. Enquanto os  
151 bastonetes e monócitos nos animais positivos. Os bovinos negativos apresentaram valores  
152 de leucócitos, bastonetes e linfócitos superiores aos de referência<sup>(12)</sup>, caracterizando um  
153 quadro de leucocitose com desvio à esquerda e linfocitose. Os animais negativos, apesar  
154 dos leucócitos normais, apresentaram neutrófilos bastonetes acima da referência para a  
155 espécie<sup>(12)</sup>, apresentando um quadro de desvio à esquerda.

156 Os resultados das análises bioquímicas séricas estão representados na Tabela 3.

157

158

159

160

161

162

163

164 Tabela 3. Valores médios, desvios padrão e valores de referência dos parâmetros  
 165 bioquímicos séricos de bovinos positivos e negativos para *T. vivax*.

Parâmetros	Média ± Desvio Padrão		Valores de Referência**
	Positivos (n=42)	Negativos (n=16)	
PT (g/dL)	5,8 ± 3,3A	6,9 ± 3,4A	6,5 – 7,4
ALB (g/dL)	1,3 ± 0,7B	2,0 ± 0,7A	3 – 3,6
GLOB (g/dL)	4,4 ± 2,7A	5,0 ± 2,8A	3 – 3,5
Relação A:G	0,4 ± 0,2B	0,5 ± 0,2A	1 – 1,02
CRE (mg/dL)	0,5 ± 0,2A	0,6 ± 0,2A	1 – 2
URE (mg/dL)	25,2 ± 14,4A	30,6 ± 13,7A	23 – 58
FAL (U/L)	72,7 ± 70,1A	90,9 ± 58,8A	0 – 488
AST (U/L)	44,2 ± 21,8B	59,3 ± 17,7A	78 – 132
GGT (U/L)	14,6 ± 8,3B	23,6 ± 10,5A	6,1 – 17,4

166 Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam valores de média estatisticamente  
 167 diferentes ( $p < 0,05$ ). \*\*KANEKO et al.<sup>(13)</sup>.

168  
 169

170 De acordo com a análise dos dados, as médias dos valores de proteínas totais, globulinas,  
 171 creatinina, ureia e fosfatase alcalina não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ). No entanto,  
 172 albumina, relação albumina/globulinas, aspartato aminotransferase e  
 173 gamaglutamiltransferase apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ), com maiores valores  
 174 sendo observados nos animais negativos. Os valores de todos os constituintes bioquímicos  
 175 séricos analisados apresentaram valores menores nos animais positivos, sendo que os  
 176 valores da albumina, creatinina e aspartato aminotransferase foram menores que os de  
 177 referência determinados por Kaneko et al.<sup>(13)</sup>. Os outros parâmetros analisados ficaram  
 178 dentro do intervalo de referência<sup>(13)</sup>, exceto a gamaglutamiltransferase nos animais  
 179 positivos, que se apresentou ligeiramente aumentada.

180

## 181 Discussão

182

183 Os resultados observados na análise do eritrograma corroboram com os vistos por Batista  
 184 et al.<sup>(14)</sup>, Cuglovici et al.<sup>(15)</sup> e Cadioli et al.<sup>(3)</sup>, os quais constataram anemia leve a moderada  
 185 em animais naturalmente infectados. A anemia na infecção por *T. vivax* pode ser descrita  
 186 como sendo normocítica normocrômica, também observada no presente estudo, com uma  
 187 tendência a se tornar macrocítica normocrômica<sup>(16)</sup>. A redução dos valores de hemácias,

188 hemoglobina e hematócrito são achados comuns na fase aguda da doença<sup>(3)</sup> e ocorre, em  
189 grande parte, pela desialilação dos eritrócitos pelas formas tripomastigotas do *T. vivax*<sup>(17)</sup>.  
190 Outros mecanismos, como hemólise intra e extravascular, diminuição ou inibição da  
191 eritropoiese e hemorragias também podem estar associados à anemia nos animais  
192 infectados<sup>(18)</sup>.

193 Diminuição significativa foi observada na contagem de plaquetas ( $p < 0,05$ ), apesar dos  
194 valores permanecerem na faixa de normalidade para bovinos<sup>(12)</sup>. A maioria dos trabalhos,  
195 entretanto, descreve a trombocitopenia como principal achado de animais infectados por *T.*  
196 *vivax*<sup>(19-21)</sup>. Anosa, Logan-Henfrey e Shaw<sup>(21)</sup> descreveram três mecanismos principais  
197 como causa da trombocitopenia: fagocitose plaquetária, agregação plaquetária e uma  
198 possível coagulação intravascular disseminada. Um fenômeno, conhecido como  
199 tripanotolerância, pode ser observado em algumas raças de bovinos e está associado a  
200 fatores ambientais e genéticos, podendo variar com a idade, estado nutricional, infecções  
201 intercorrentes, entre outros<sup>(4)</sup>, podendo explicar o fato de os animais positivos ainda  
202 estarem na faixa de normalidade para bovinos<sup>(12)</sup>.

203 Os resultados obtidos na análise do leucograma dos animais positivos diferem dos  
204 observados pela maioria dos estudos, os quais demonstram tanto uma leucopenia com  
205 linfocitose<sup>(5,15,22)</sup> quanto uma leucocitose por linfocitose<sup>(22,23)</sup>, em bovinos com infecção  
206 por *T. vivax*. A eosinopenia observada corrobora com os resultados encontrados por Paiva  
207 et al.<sup>(23)</sup>.

208 A leucopenia na tripanossomose tem sido atribuída a uma diminuição na mielopoiese<sup>(24)</sup>.  
209 Jenkins e Facer<sup>(25)</sup> relataram uma leucopenia inicial durante as primeiras 3 semanas de  
210 infecção por *T. vivax* em bovinos, com valores subsequentemente acima dos níveis pré-  
211 infecciosos. Cadioli et al.<sup>(3)</sup> e Almeida et al.<sup>(26)</sup> observaram diferentes comportamentos no  
212 leucograma de animais infectados, os quais podem permanecer dentro da normalidade ou  
213 caracterizarem um quadro de leucopenia na fase inicial da infecção e apresentarem  
214 leucocitose por linfocitose em estágios mais avançados da doença. Esta dinâmica  
215 possivelmente explica a leucocitose por linfocitose observada nos animais considerados  
216 como negativos. Embora sejam negativos na pesquisa parasitológica, os últimos podem ter  
217 sido infectados e se apresentam na fase crônica da doença, pois os bovinos podem ser  
218 negativos parasitologicamente, com sinais clínicos ou não, e positivos na avaliação  
219 sorológica, como na Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Durante o curso das  
220 tripanossomíases, verificam-se flutuações da parasitemia ou até intervalos

221 aparasitêmicos<sup>(27)</sup>, que podem estar relacionados à resposta imunológica do hospedeiro e à  
222 variação antigênica das glicoproteínas variantes de superfície (GVS) dos tripanossomas<sup>(28)</sup>.  
223 Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) foram observadas nas contagens de eosinófilos e  
224 monócitos quando confrontados bovinos positivos e negativos. Essa condição pode ser  
225 explicada pela liberação de glicocorticoides endógenos em resposta ao estresse causado  
226 pela doença.

227 Animais negativos e positivos apresentaram desvio à esquerda e diferença estatística na  
228 contagem de neutrófilos segmentados, revelando uma provável infecção secundária. A  
229 susceptibilidade a infecções secundárias é um fenômeno bastante conhecido em bovinos  
230 infectados com tripanosoma. Infecções oportunistas são capazes de provocar quadros  
231 graves podendo, inclusive, levar a morte do animal<sup>(1)</sup>.

232 Com relação ao protéinograma, tais resultados são semelhantes aos observados por  
233 Schenck et al.<sup>(4)</sup>, os quais observaram diminuição dos valores de proteínas totais e  
234 albumina de 4 a 8 dias após a infecção por *Trypanosoma vivax*, além do aumento na  
235 concentração de globulinas após 12 dias da infecção. De acordo com os mesmos autores,  
236 essa condição provavelmente está relacionada a um estímulo antigênico do parasito com  
237 aumento da imonoglobulinas. A diferença estatística ( $p < 0,05$ ) da relação  
238 albumina/globulinas pode ser explicada também pela diminuição dos valores de albumina  
239 dos animais positivos. Os animais do grupo negativo apresentaram valores das globulinas  
240 superiores aos de referência<sup>(13)</sup>, possivelmente por estarem infectados, embora em uma  
241 condição aparasitêmica.

242 Em relação à ureia e creatinina, a maioria dos estudos relataram concentrações dentro dos  
243 valores de referência para bovinos<sup>(4,29)</sup>. As médias de creatinina no estudo em questão  
244 podem ser explicadas por diminuição da massa muscular dos bovinos analisados, e não por  
245 algum dano renal.

246 Estudos realizados por Moraes<sup>(30)</sup> e Schenck et al.<sup>(4)</sup> demonstraram uma atividade da AST  
247 inalterada em animais infectados. Kadima et al.<sup>(31)</sup> observaram um incremento inicial até 6  
248 dias após a infecção com posterior decréscimo. No presente estudo, as médias de AST  
249 foram inferiores em animais positivos e as médias da enzima diferiram estatisticamente  
250 ( $p < 0,05$ ). Esse decréscimo pode ser associado à alteração hepática com a progressão da  
251 doença, como fibrose do órgão<sup>(31)</sup>.

252 Os resultados das médias de concentrações de GGT diferem dos observados por Schenck  
253 et al.<sup>(4)</sup>, os quais notaram aumento da enzima quando comparado ao controle, mas dentro

254 dos valores normais para bovinos. Moura et al.<sup>(32)</sup> perceberam tanto um aumento quanto  
 255 uma diminuição na concentração da enzima em animais naturalmente infectados pelo  
 256 parasito.

257

## 258 **Conclusões**

259

260 Os resultados permitem inferir que as alterações nos parâmetros bioquímicos e no  
 261 eritrograma são compatíveis com a infecção por *Trypanosoma vivax*. Anemia e as  
 262 alterações do proteínograma são os principais achados na avaliação laboratorial.

263

## 264 **Referências**

265

266 1. Dagnachew S, Bezie, M. Review on *Trypanosoma vivax*. Afr J Basic Appl Sci. 2015; 7(1): 41-  
 267 64.

268

269 2. Silva RAMS, Rivera D'Ávila AM, Seidl A, Ramirez L. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma*  
 270 *vivax*: biologia, diagnóstico e controle. 1st ed. Corumbá: Embrapa Pantanal; 2003. 141p.  
 271 Portuguese

272

273 3. Cadioli FA, Barnabé PA, Machado RZ, Teixeira MCA, André MR, Sampaio PH et al. First  
 274 report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. Rev Bras Parasitol  
 275 Vet. 2012; 21(2): 118-124. Available  
 276 from:[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S198429612012000200009&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198429612012000200009&lng=en&tlng=en)  
 277 [&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198429612012000200009&lng=en&tlng=en).

278

279 4. Schenk MAM, Mendonça CL, Madruga CR, Kohayagawa A, Araújo FR. Avaliação clínico-  
 280 laboratorial de bovinos nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. Pesqui Vet  
 281 Bras. 2001; 21(4): 157-161. Disponível em:  
 282 [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2001000400006&lng=pt&tlng=pt)  
 283 [736X2001000400006&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2001000400006&lng=pt&tlng=pt).

284

285 5. Silva RAMS, Ramirez L, Souza SS, Ortiz AG, Pereira SR, Dávila AMR. Hematology of natural  
 286 bovine trypanosomosis in the Brazilian pantanal and Bolivian wetlands. Vet Parasitol. 1999; 85(1):  
 287 87-93. Available from:  
 288 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401799000813?via%3Dihub>.

289

290 6. Almeida KS, Freitas FLC, Tebaldi JH, Alessi AC, Machado RZ, Nascimento AA. Alterações  
 291 clínicas, histopatológicas e enzimáticas em ovinos infectados experimentalmente por *Trypanosoma*  
 292 *vivax*. Cienc Anim Bras. 2010; 11(3): 669-676.

293

294 7. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Veterinary Medicine: A textbook of the  
 295 diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 9th ed. London: W.B. Saunders; 2000. 1877 p.

296

297 8. Anosa VO. Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. Review  
 298 Article. Vet. Med. 1983; 30:717-741.

- 299  
300 9. Ferreira Neto JM, Viana ES, Magalhães LM. Patologia Clínica Veterinária. 2ª ed. Belo  
301 Horizonte: Rabelo e Brasil; 1982. 279 p.  
302
- 303 10. Woo PTK. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African Trypanosomiasis.  
304 Acta Trop. 1970; 27(4): 384-386.  
305
- 306 11. Hoare CA. The Salivaria: Subgenus Duttonella Chalmers. In: Hoare CA. The trypanosomes of  
307 mammals: a zoological monograph. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1972. p. 401-429.  
308
- 309 12. Mahaffey EA. Quality control, Test validity, and reference values. In: Prasse KW, Latimer K,  
310 Mahaffey E. Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine : clinical pathology. 4th ed.  
311 Ames: Iowa State University Press; 2003. p. 331-342.  
312
- 313 13. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss M. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed.  
314 Academic Press; 2008. 928p.  
315
- 316 14. Batista JS, Bezerra FSB, Lira RA, Carvalho RG, Rosado Neto AM, Petri AA et al. Aspectos  
317 clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na  
318 Paraíba. Pesqui Vet Bras 2008; 28(1): 63-69. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2008000100010>.  
319
- 320
- 321 15. Cuglovici DA, Bartholomeu DC, Reis-Cunha JL, Carvalho AV, Ribeiro MFB et al.  
322 Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais  
323 state, Brazil. Vet Parasitol 2010; 169(3-4): 320-326. Available from:  
324 <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.041>. PMID:20138431.  
325
- 326 16. Saror DI. Classification of the anaemia of bovine trypanosomosis. Vet Rec 1979; 105: 95-98  
327
- 328 17. Guegan F, Plazolles N, Baltz T, Coustou V. Erythrophagocytosis of desialylated red blood cells  
329 is responsible for anaemia during *Trypanosoma vivax* infection. Cell Microbiol 2013; 15(8): 1285-  
330 1303. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23421946>.  
331
- 332 18. Holmes PH. Pathophysiology of parasitic infections. Parasitology 1997; 94:829-851.  
333 Moura DM, Paneto JCC, Bittar ER, Bittar JFF. Perfil bioquímico de bovinos naturalmente  
334 infectados por *Trypanosoma vivax*. Cienc Anim Bras 2009; S1: 642-647.  
335
- 336 19. Assoku RKG, Gardiner PR. Detection of antibodies to platelets and erythrocytes during  
337 infection with hemorrhage-causing *Trypanosoma vivax* in Ayrshire cattle. Vet Parasitol 1989; 31(3-  
338 4): 199-216. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2503920?dopt=Abstract>.  
339
- 340 20. Olubayo RO, Mugerá GM. Pathogenesis of haemorrhages in *Trypanosoma vivax* infection in  
341 cattle. I. Disseminated intravascular coagulation. Bull Anim Health Prod Afr 1985; 33(3): 211-217.  
342
- 343 21. Anosa VO, Logan-Henfrey LL, Shaw MK. A light and electron microscopic study of changes  
344 in blood and bone marrow in acute hemorrhagic *Trypanosoma vivax* infection in calves. Vet Pathol  
345 1992; 29(1): 33-45. Available from:  
346 <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/030098589202900105>  
347
- 348 22. Espinoza E, Aso P. Valores hematológicos de bovinos infectados experimentalmente con un  
349 aislado venezolano de *Trypanosoma vivax*. Parte II. Leucócitos. Rev Salud Anim 1992; 14: 41-49  
350

- 351 23. Paiva F, Lemos RAA, Nakazato L, Mori AE, Brum KB, Bernardo KC. *Trypanosoma vivax* em  
352 bovinos no pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I- Acompanhamento clínico,  
353 laboratorial e anatomopatológicos de rebanhos infectados. Rev Bras Parasitol Vet 2000; 9(2): 135-  
354 141
- 355  
356 24. Schalm OW, Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Philadelphia: Lea and  
357 Febinger; 1986. 1221p.
- 358  
359 25. Jenkins, GC, Facer, CA. Haemathology of African trypanosomiasis. In: Tizard I, editor.  
360 Immunology and pathogenesis of trypanosomiasis, Boca Raton: CRC Press; 1985. p. 13-44.  
361
- 362 26. Almeida KS, Freitas FLC, Tebaldi JH, Alessi AC, Machado RZ et al. Alterações clínicas,  
363 histopatológicas e enzimáticas em ovinos infectados experimentalmente por *Trypanosoma vivax*.  
364 Cienc Anim Bras 2010; 11(3): 669-676.
- 365  
366 27. Silva R, Ramirez R, Souza SS, Ortriz AG, Pereira SR, Dávila AMR et al. Hematology of  
367 natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. Vet Parasitol.  
368 1999; 85(1): 87-93.
- 369  
370 28. Stijlemans B, Vankrunkelsven A, Caljon G, Bockstal V, Guilliams M, Bosschaerts T et al. The  
371 central role of macrophages in trypanosomiasis-associated anemia: rationale for therapeutical  
372 approaches. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2010; 10(1):71-82.  
373
- 374 29. Fidelis Junior OL, Sampaio PH, Machado RZ, André MR, Marques LC, Cadioli FA et al.  
375 Evaluation of clinical signs, parasitemia, hematologic and biochemical changes in cattle  
376 experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. Braz. J Vet Parasitol. 2016; 25(1):69-81.
- 377 30. Moraes MAV. *Trypanosoma vivax*: infecção experimental em bovinos (*Bos indicus*)  
378 [Dissertação]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista; 2001.  
379
- 380 31. Kadima KB, Gyang EO, Saror DI, Esievo KAN. Serum biochemical values of *Trypanosoma*  
381 *vivax*-infected cattle and the effects of lactose in saline infusion. Vet Arch 2000; 70(2): 67-74.  
382
- 383 32. Moura DM, Paneto JCC, Bittar ER, Bittar JFF. Perfil bioquímico de bovinos naturalmente  
384 infectados por *Trypanosoma vivax*. Cienc Anim Bras 2009; S1: 642-647.