

## Perfil eletroforético das proteínas de fase aguda em caprinos experimentalmente infectados com *Trypanosoma evansi*

Thais Helena Constantino  
PATELLI<sup>1</sup>  
Luiz Carlos MARQUES<sup>1</sup>  
José Jurandir FAGLIARI<sup>1</sup>  
Paulo César SILVA<sup>1</sup>

1 - Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal-SP

**Correspondência para:**  
Rua São Paulo, 2812, 86.360-000,  
Bandeirantes-PR, tpatelli@hotmail.com

Recebido para publicação: 11/09/2006  
Aprovado para publicação: 28/08/2008

### Resumo

Considerado como um dos principais agentes das tripanossomíases, *Trypanosoma evansi* causa uma doença genericamente conhecida como “surra” e de ampla distribuição geográfica. Esse trabalho teve como objetivo principal estudar o perfil eletroforético das proteínas de fase aguda de caprinos experimentalmente infectados com este hematozoário. Para tal, foram utilizadas dez fêmeas caprinas, com vários graus de mestiçagem, com idade aproximada de 4 meses, clinicamente sadias e sorologicamente negativas para a presença de anticorpos anti-*T. evansi* (Reação de Imunofluorescência Indireta – RIFI). Os animais foram divididos em dois grupos: grupo 1 (G1): seis animais inoculados via intravenosa com  $2,38 \times 10^6$  tripomastigotas de *T. evansi* e grupo 2 (G2): quatro animais utilizados como testemunhos. O sangue para a obtenção do soro foi obtido diariamente até o 14º dia após a inoculação (DAI), semanalmente até o 98º DAI e quinzenalmente até o 364º DAI. O fracionamento das proteínas foi obtido por em gel de poliácridamida contendo duodecil sulfato de sódio (SDS- PAGE). Vinte e uma proteínas foram encontradas nos soros caprinos. Destas, oito foram nominalmente identificadas; fosforilase, transferrina, albumina, antitripsina, glicoproteína ácida, haptoglobina, hemoglobina e imunoglobulina de cadeia leve.

**Palavras-chaves:**  
Eletroforese.  
Proteínas. Cabras.  
*T. evansi*.

### Introdução

Dentre as principais tripanossomíases, a “surra”, como é conhecida genericamente tem como agente causador o *Trypanosoma evansi*. Este protozoário, pertencente ao gênero *Trypanosoma*, subgênero *Trypanozoon*, afeta grande número de animais.<sup>1</sup> Apesar da distribuição cosmopolita, as tripanossomíases animais apresentam maior ocorrência nos países tropicais e sub-tropicais principalmente na África, Ásia e Américas.<sup>2</sup>

Os principais hospedeiros acometidos variam geograficamente, entretanto, os búfalos, bovinos, camelos e eqüídeos são particularmente sensíveis.<sup>3</sup>

O período pré-patente tem duração de aproximadamente duas semanas. Em caprinos,

Ngeranwa et al.<sup>4</sup> observaram período pré-patente que variou de 2 a 4 dias e Sharma et al.<sup>5</sup> em condições experimentais, detectaram parasitemias nos caprinos cerca de sete dias após a inoculação.

O diagnóstico dessa enfermidade torna-se relativamente simples em animais com infecções agudas, quando os parasitas estão presentes em grande número no sangue periférico. A detecção direta do parasita é comumente realizada por técnicas como o exame da gota espessa, o método de concentração (centrifugação) de Strout e contagem de parasitas em esfregaços sangüíneos.<sup>6</sup> Em adição aos métodos de diagnóstico, o proteinograma, pode auxiliar no diagnóstico das tripanossomíases.<sup>7</sup>

As proteínas de fase aguda são grupos

de glicoproteínas produzidos principalmente pelo fígado, sendo suas produções estimuladas por citocinas específicas, liberadas por leucócitos e macrófagos, com rápidas elevações de sua concentração no plasma durante condições inflamatórias.<sup>8</sup> Essas proteínas podem ser classificadas em positivas, representadas pela ceruloplasmina, fibrinogênio, proteína C-reativa, antitripsina e haptoglobina e em negativas, como a pré-albumina, a albumina e a transferrina.<sup>9</sup>

Na clínica, os métodos de detecção de proteínas de fase aguda têm auxiliado o diagnóstico de processos inflamatórios. Alguns trabalhos comparativos sugerem que as proteínas de fase aguda são mais sensíveis para detecção da inflamação do que a análise hematológica.<sup>10</sup> Em ovinos, Skinner e Roberts<sup>11</sup> demonstraram que a haptoglobina foi melhor indicador de infecção bacteriana do que os exames hematológicos.

Alterações em diferentes frações protéicas do soro foram observadas em camelos<sup>12</sup>, bezerras<sup>13</sup> e em eqüinos<sup>14</sup> infectados com *T. evansi*. Em um cão infectado com este hematozoário, Sandoval et al.<sup>15</sup> encontraram variações nos teores séricos das proteínas totais e na albumina e oscilações nos teores séricos da transferrina, haptoglobina e albumina foram obtidos por Passos<sup>16</sup> em ovinos experimentalmente infectados. Em ratos Wistar experimentalmente infectados com *T. evansi*, Teixeira<sup>6</sup> identificou nominalmente 12 proteínas de fase aguda, com variados graus de oscilações durante o período observado.

O presente trabalho é plenamente justificável devido à relevância da tripanossomíase, especialmente nos países tropicais, aliado a escassez de literatura na espécie caprina. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o proteinograma de caprinos infectados experimentalmente com *T. evansi*.

## Material e Método

Para este experimento foram utilizadas dez fêmeas caprinas, com vários graus de mestiçagem, com aproximadamente

4 meses de idade e clinicamente saudáveis. Os animais foram mantidos em baias devidamente teladas, junto ao setor de grandes animais do Laboratório de Pesquisas do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/Unesp. Durante toda fase experimental os animais receberam água, sal mineralizado, silagem de milho (*Zea mays*) e feno de coast cross (*Cynodon dactylon* L.) “ad libitum”, e ainda foram suplementados com ração composta por milho (70%) e soja (30%) na proporção de 500g animal dia. Antes do início do experimento, os animais foram desverminados e submetidos a exames clínicos e laboratoriais.

Os animais foram distribuídos em dois grupos: grupo inoculado (G1) composto pelos animais 02, 06, 07, 08, 09 e 10 e grupo testemunho (G2) composto pelos animais 01, 03, 04 e 05.

A cepa de *T. evansi* utilizada foi isolada por Moreira e Machado<sup>17</sup> de um cão naturalmente infectado. Tripomastigotas sangüícolas deste parasita foram colhidas em solução de Alsever, adicionada de Dimetil sulfoxido (DMSO) a 10% e criopreservada em nitrogênio a -196°C.

Os caprinos do grupo G1 foram inoculados via intravenosa com 1 mL do inóculo padronizado, de maneira que cada animal recebeu cerca de  $2,38 \times 10^6$  tripomastigotas de *T. evansi*. Durante o experimento foi realizada prova biológica em ratos no 10°, 40°, 70°, 100°, 130°, 160°, 190°, 220°, 250°, 280°, 310°, 340°, 365° dias após a inoculação (DAI) e parasitemia por exame da gota espessa e método de concentração de Strout para a confirmação da presença do agente nos animais inoculados.

Alíquotas de sangue para obtenção de soro foram colhidas, por punção da veia jugular externa, imediatamente antes das inoculações, diariamente até 14° DAI, semanalmente até 98° DAI e quinzenalmente até 364° DAI.

A concentração plasmática de proteína total foi determinada pelo método de Biureto. Para o fracionamento das

proteínas utilizou-se eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica descrita por Laemmli<sup>18</sup>. Após o fracionamento o gel foi corado durante 10 min. em solução de azul de coomassie e, em seguida, colocado em solução de ácido acético a 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações protéicas se apresentassem nítidas. As concentrações dessas proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS 9301, Tokio, Japan). Como referência utilizou-se uma solução marcadora (Sigma, Saint Louis, USA) com pesos moleculares 36.000, 45.000, 66.000, 97.400, 116.000 e 205.000 daltons (D), além de proteínas purificadas haptoglobina, a1-antitripsina.

Para a análise estatística empregou-se o delineamento inteiramente casualizado e as análises foram realizadas dentro de cada dia de observação, utilizando-se o teste de t para comparações múltiplas.

## Resultados e Discussão

A primeira detecção do tripomastigota sangüícola nas cabras infectadas ocorreu no 21° DAI, observado em exame de gota espessa. Posteriormente, os animais foram apresentando-se positivos, sendo o último no 35° DAI. A partir do 95° DAI, a parasitemia tornou-se negativa em diferentes momentos. Entretanto, a presença do parasita foi evidenciada no decorrer de todo o experimento através da prova biológica. Cabe ressaltar que nenhuma cabra inoculada apresentou hipertermia durante o período de avaliação.

O método de fracionamento de proteínas por eletroforese permitiu identificar 21 proteínas com pesos moleculares que variaram entre 16 e 165 kDa. Destas, 6 foram identificadas nominalmente (Tabela 1), sendo a transferrina, a albumina, a antitripsina, a haptoglobina, a glicoproteína ácida e a IgG de cadeia leve. As demais foram obtidas através de seus pesos moleculares. Considerando que o objeto de estudo deste trabalho foi avaliar o

comportamento das proteínas de fase aguda, serão então discutidas as proteínas nominalmente identificadas neste experimento.

De acordo com a tabela 1, os teores séricos da transferrina no 14°, 42°, 70°, 98°, 210°, 266° e 364° DAI (dias após a inoculação) apresentaram-se estatisticamente diferentes, sendo superiores nos animais inoculados (G1). Embora o tempo de meia-vida desta proteína seja de oito a dez dias<sup>19</sup>, no presente trabalho esses valores permaneceram elevados nos animais inoculados até o final do período observado. Elevações nos teores séricos da albumina também foram observadas no 98° DAI nos animais do G1. Passos<sup>16</sup> trabalhou com ovinos experimentalmente infectados com *T. evansi* e encontrou elevações no traçado da albumina durante os 240 dias de observação. Em ratos inoculados com a mesma cepa deste hematozoário, Teixeira<sup>6</sup> observou aumento significativo da transferrina no 10° DAI e reduções significativas nos teores séricos da albumina no 15° e 60° DAI. Entretanto, redução dos teores séricos da albumina em infecções com *T. evansi* foram observados em bezerros por Verman e Gautam<sup>13</sup>, em eqüinos por Brem, Monzon e Mancebo<sup>14</sup>, em hamsters por Monzón e Villavicencio<sup>20</sup> e em cães por Sandoval et al.<sup>15</sup>.

Embora a albumina e a transferrina sejam consideradas de fase aguda negativa, tendendo a decrescer seus valores frente a condições inflamatórias<sup>8</sup>, ressalta-se que no presente experimento a presença do parasita foi confirmada durante todo período avaliado, tornando-se um fator causador de reação imunológica pelo organismo animal e, portanto, podendo ser a possível causa da elevação dos teores das mesmas.

Segundo Godson et al.<sup>21</sup> as proteínas de fase aguda positiva se elevam imediatamente após a instalação de um processo inflamatório ou endotoxêmico. No presente estudo, observou-se que os valores séricos da antitripsina, haptoglobina, glicoproteína ácida e da IgG de cadeia leve não demonstraram alterações significativas.

**Tabela 1** - Médias (M), desvio-padrão (DP) e significância do teste t das concentrações séricas das frações protéicas identificadas nominalmente presentes no traçado eletroforético em gel de acrilamida (SDS-PAGE), de caprinos inoculados com *T. evansi* (G1) e nos do grupo testemunho (G2). Jaboticabal, 2006

Proteína	PM (KD)	G	Dias após a Inoculação com <i>T. evansi</i>											
			0	7	14	28	42	70	98	154	210	266	322	364
Proteína total (g/dL)	G1	M	0,91	0,86	0,89	0,89	0,93	0,90	0,91	0,91	0,92	0,95	0,93	0,94
		DP	0,04	0,02	0,04	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04
	G2	M	0,91	0,87	0,87	0,87	0,88	0,86	0,87	0,87	0,88	0,92	0,93	0,90
		DP	0,04	0,03	0,06	0,04	0,04	0,03	0,01	0,02	0,03	0,02	0,01	0,03
	Teste T		0,3675 <sup>ns</sup>	0,3899 <sup>ns</sup>	0,5115 <sup>ns</sup>	0,5134 <sup>ns</sup>	0,0330 <sup>ns</sup>	0,0673 <sup>ns</sup>	0,0379*	0,0640 <sup>ns</sup>	0,1014 <sup>ns</sup>	0,1031 <sup>ns</sup>	0,9178 <sup>ns</sup>	0,5473 <sup>ns</sup>
Transferrina 75	G1	M	2,63	2,65	2,71	2,67	2,71	2,75	2,80	2,61	2,70	3,71	2,70	2,74
		DP	0,05	0,04	0,03	0,04	0,13	0,06	0,04	0,09	0,04	0,03	0,06	0,02
	G2	M	2,62	2,62	2,62	2,63	2,54	2,64	2,66	2,56	2,62	2,63	2,69	2,59
		DP	0,03	0,03	0,07	0,16	0,05	0,06	0,03	0,07	0,06	0,03	0,04	0,04
	Teste T		0,6897 <sup>ns</sup>	0,1831 <sup>ns</sup>	0,0182*	0,4937 <sup>ns</sup>	0,0338*	0,0250*	0,0003**	0,3765 <sup>ns</sup>	0,0281*	0,0003**	0,6673 <sup>ns</sup>	0,0001**
Albumina 66	G1	M	3,59	3,53	3,53	3,53	3,55	3,57	3,59	3,61	3,61	3,71	3,63	3,69
		DP	0,04	0,02	0,04	0,03	0,05	0,02	0,02	0,04	0,03	0,03	0,06	0,03
	G2	M	3,57	3,53	3,49	3,54	3,54	3,54	3,55	3,61	3,58	3,68	3,65	3,66
		DP	0,02	0,04	0,10	0,03	0,05	0,04	0,01	0,05	0,02	0,01	0,02	0,01
	Teste T		0,4591 <sup>ns</sup>	0,9881 <sup>ns</sup>	0,3882 <sup>ns</sup>	0,6065 <sup>ns</sup>	0,6381 <sup>ns</sup>	0,1160 <sup>ns</sup>	0,0360*	0,8318 <sup>ns</sup>	0,0644 <sup>ns</sup>	0,0903 <sup>ns</sup>	0,4271 <sup>ns</sup>	0,0768 <sup>ns</sup>
Antitripsina 60	G1	M	3,11	3,07	3,14	3,14	3,19	3,15	3,13	2,96	3,02	3,01	3,06	2,99
		DP	0,06	0,06	0,11	0,07	0,11	0,08	0,09	0,12	0,14	0,07	0,09	0,08
	G2	M	3,15	3,12	3,15	3,15	3,15	3,11	3,11	2,92	3,05	3,00	2,99	3,01
		DP	0,07	0,07	0,11	0,10	0,07	0,08	0,03	0,13	0,11	0,07	0,08	0,09
	Teste T		0,3774 <sup>ns</sup>	0,2929 <sup>ns</sup>	0,9174 <sup>ns</sup>	0,9197 <sup>ns</sup>	0,4687 <sup>ns</sup>	0,4184 <sup>ns</sup>	0,6535 <sup>ns</sup>	0,6376 <sup>ns</sup>	0,7103 <sup>ns</sup>	0,8092 <sup>ns</sup>	0,1647 <sup>ns</sup>	0,7030 <sup>ns</sup>
Haptoglobina 44	G1	M	0,84	0,69	0,92	0,84	0,67	0,53	0,54	0,58	0,35	0,00	0,22	0,14
		DP	0,16	0,35	0,18	0,07	0,39	0,42	0,42	0,45	0,63	0,00	0,53	0,32
	G2	M	0,87	0,75	0,62	0,42	0,58	0,56	0,05	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00
		DP	0,07	0,13	0,42	0,49	0,41	0,43	0,11	0,53	0,00	0,00	0,00	0,00
	Teste T		0,7883 <sup>ns</sup>	0,7236 <sup>ns</sup>	0,1536 <sup>ns</sup>	0,0720 <sup>ns</sup>	0,7225 <sup>ns</sup>	0,8953 <sup>ns</sup>	0,0577 <sup>ns</sup>	0,7187 <sup>ns</sup>	0,3121 <sup>ns</sup>	0,0000	0,4468 <sup>ns</sup>	0,4071 <sup>ns</sup>
Glicoproteína ácida 38	G1	M	1,50	1,29	0,74	0,69	0,71	0,13	0,37	0,53	1,22	0,79	1,10	0,69
		DP	0,39	0,36	0,68	0,67	0,62	0,33	0,63	0,42	0,36	0,40	0,58	0,67
	G2	M	1,34	0,80	1,00	0,55	0,56	0,00	0,00	0,38	1,07	0,75	1,25	0,88
		DP	0,15	0,54	0,06	0,69	0,47	0,00	0,00	0,44	0,38	0,50	0,07	0,14
	Teste T		0,4541 <sup>ns</sup>	0,1235 <sup>ns</sup>	0,4630 <sup>ns</sup>	0,7600 <sup>ns</sup>	0,6985 <sup>ns</sup>	0,4468 <sup>ns</sup>	0,2778 <sup>ns</sup>	0,5993 <sup>ns</sup>	0,5657 <sup>ns</sup>	0,8801 <sup>ns</sup>	0,6269 <sup>ns</sup>	0,5995 <sup>ns</sup>
IgG cadeia leve 26	G1	M	2,45	2,44	2,48	2,46	2,47	2,50	2,43	2,55	2,41	2,37	2,17	2,36
		DP	0,06	0,04	0,10	0,04	0,04	0,09	0,07	0,06	0,06	0,06	0,10	0,07
	G2	M	2,54	1,82	2,47	2,51	2,49	2,46	2,39	2,56	2,36	2,36	2,36	2,29
		DP	0,10	0,22	0,06	0,06	0,09	0,71	0,05	0,07	0,08	0,08	0,34	0,12
	Teste T		0,1098 <sup>ns</sup>	0,2341 <sup>ns</sup>	0,8488 <sup>ns</sup>	0,1219 <sup>ns</sup>	0,6379 <sup>ns</sup>	0,5075 <sup>ns</sup>	0,3071 <sup>ns</sup>	0,7749 <sup>ns</sup>	0,3073 <sup>ns</sup>	0,8355 <sup>ns</sup>	0,2338 <sup>ns</sup>	0,3318 <sup>ns</sup>

Dados transformados para log (x+1); G – grupo; PM – peso molecular

Estes resultados diferiram de Teixeira<sup>6</sup> que observou em ratos inoculados com *T. evansi*, redução da antitripsina no 5° DAI e aumento no 45° DAI, bem como da glicoproteína ácida e da haptoglobina. Entretanto, é importante aventar que no presente experimento, embora não tenha apresentado variações significativas, a glicoproteína ácida oscilou de sobremaneira, apresentando valores que variaram de 0,13 a 1,50 mg/dL, sofrendo reduções e elevações que podem ter relação com a permanência do tripanossoma.

Merece destaque a observação de que no presente trabalho, as proteínas de fase aguda identificadas permaneceram presentes

ao longo do experimento, alertando para a importância de que mesmo que não tenham apresentado diferenças significativas, ainda assim, apresentaram variações em seus valores, fato que ressalta a necessidade de novos estudos.

Os teores séricos da proteína total neste trabalho não apresentaram variações significativas, exceto no 98° DAI, no qual foram mais elevadas nos animais inoculados. Em bovinos infectados com *T. evansi*, Verman e Gautam<sup>22</sup> também não observaram diferenças significativas na proteína total em 40 dias de observação. Resultado semelhante foi obtido por Marques<sup>23</sup> em equinos infectados com este

hematozoário.

No presente trabalho, ressalta-se que os animais inoculados não apresentaram sintomas clínicos desta tripanossomíase,

embora todas as provas biológicas e parasitêmicas tenham sido positivas, fato que sustenta a possibilidade desta espécie comportar-se como reservatório da doença.

## Electrophoresis profile of the acute phase proteins of goats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*.

### Abstract

Considered as one of the main agents of the tripanossomíases, *Trypanosoma evansi* causes a disease generically known as “surra”, with wide geographic occurrence. This work has the aim to study the electrophoretic profile of the acute phase proteins of goats, experimentally infected with *T. evansi*. Ten crossbred female goats, around 4 months of age, clinically healthy and serum negative for the presence of antibodies anti-*T. evansi* (IFAT) were used. The animals were divided in two groups: six were inoculated (G1) intravenously with  $2,38 \times 10^6$  tripomastigotes of *T. evansi* and four were kept as non-infected controls. The blood for serum was collected daily until the 14 days after inoculation (DAI), weekly up to the 98<sup>th</sup> DAI and every two weeks up to the 364<sup>th</sup> DAI. The serum proteins were separated by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Twenty-one proteins were found in the serum of the goats, eight were nominally identified; phosphorylase, transferrin, albumin, antitrypsin, acid glycoprotein, haptoglobin, hemoglobin, and light chain immunoglobulin.

**Key words:**  
Electrophoresis.  
Proteins.  
Goats.  
*T. evansi*.

### Referências

- 1 WOO, P. T. K. Salivarian trypanosomes producing disease in livestock outside of sub-Saharan Africa. In: KREIER, J. P. **Parasitic protozoa**. New York: Academic Press, 1977. v. 1, p. 270-295.
- 2 TOURATIER, L. Dixième reunion internationale sur *Trypanosoma evansi*: rapport du groupe de travail. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v. 9, n. 4, p. 1197-1207, 1990.
- 3 GUTIEEREZ, C.; CORBERA, J. A.; MORALES, M.; BÜSCHER, P. Trypanosomosis in goats: current status. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1081, p. 300-310, 2006.
- 4 NGERANWA, J. J.; GATUMBI, P. K.; MUTIGA, E. R.; AGUMBAH, G. J. O. Pathogenesis of *Trypanosoma (brucei) evansi* in small East African goats. **Res. Vet. Sci.**, v. 54, p. 283-289, 1993.
- 5 SHARMA, D. K.; CHAUHAN, P. P. S.; SAXENA, V. K.; AGRAWAL, R. D. Haematological changes in experimental trypanosomiasis in Barbari goats. **Small Ruminant Research**, v. 38, n. 2, p. 145-149, 2000.
- 6 TEIXEIRA, M. C. A. **Proteinogramas séricos de ratos wistar experimentalmente infectados com *Trypanosoma evansi* Steel, 1885 (Sarcocystis sp. Trypanosomatidae)**. 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.
- 7 GRURYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. **Vet. Bull.**, v. 64, n. 11, p. 1009-1018, 1994.
- 8 SINGH, S. V.; PACHAURI, S. P. Acute phase proteins in bovine mastitis. **Indian J. Anim. Sci.**, v. 72, n. 1, p. 20-22, 2002.
- 9 KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.
- 10 HORADAGODA, N. U.; KNOX, K. M.; GIBBS, H. A.; REID, S. W.; HORADAGODA, A.; EDWARDS, S. E.; ECKERSALL, P. D. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. **Vet. Rec.**, London, v.144, n.16, p.437-442, 1999.
- 11 SKINNER, J. G.; ROBERTS, L. Haptoglobin as an indicator of infection in sheep. **Vet. Rec.**, v. 134, n. 2, p. 33-36, 1994.
- 12 BOID, R.; LUCKINS, A. G.; RAE, P. F.; GRAY, A. R.; MAHMOUD, M. M.; MALIK, K. H. Serum immunoglobulin levels and electrophoretic patterns of

- serum proteins in camels infected with *Trypanosoma evansi*. **Vet. Parasitol.**, v. 6, n. 4, p. 333-345, 1980.
- 13 VERMAN, B. B.; GAUTAM, O. P. Electrophoretic analysis of serum proteins of calves experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. **Indian J. Anim. Health**, v.18, p. 33-37, 1979.
- 14 BREM, J. J.; MONZÓN, C. M.; MANCEBO, O. A. Cambios hematológicos en la tripanosomiasis equina experimental (*T. equinum*, Vogés 1901). **Rev. Mil. Vet.**, v. 32, n. 150, p. 413-420, 1984.
- 15 SANDOVAL G. L.; COPPO, N. B.; SANCHEZ NEGRETTE, M.; COPPO, J. A. Alterações bioquímicas e histopatológicas de um cão e ratos infectados com *Trypanosoma evansi*. **Hora Vet.**, v. 14, n. 81, p. 53-55, 1994.
- 16 PASSOS, P. B. **Infecção experimental em ovinos com *Trypanosoma evansi* Steel, 1885 (Sarcostigophora: Trypanosomatidae)**. 2004. 236 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.
- 17 MOREIRA, R. D.; MACHADO, R. Z. Identificação e isolamento do *Trypanosoma equinum* em um cão do Município de Camapuã, M.S. In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINÁRIAS, 10., 1985, Jaboticabal. **Resumos...** Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 1985. p. 66.
- 18 LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.
- 19 JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.
- 20 MONZÓN C. M.; VILLAVIVENCIO, V. I. Serum proteins in guinea-pigs and horse infected with *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885). **Vet. Parasitol.**, v. 36 n. 3-4, p. 295-301, 1990.
- 21 GODSON D. L.; CAMPOS, M.; ATTAH-POKU, S. K.; REDMOND, M. J.; CORDEIRO, D. M.; SETHI, M. S.; HARLAND, R. J.; BABIUK, L. A. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. **Vet. Immunol. And Immunopathol.**, v. 51, p. 277-292, 1996.
- 22 VERMAN, B. B.; GAUTAM, O. P. Serological diagnosis of experimental bovine surra (*Trypanosoma evansi* infection) – A comparison of passive haemagglutination, gel diffusion and indirect fluorescent antibody test. **Indian Vet. J.**, v. 54, p. 809-813, 1982.
- 23 MARQUES, L. C. **Infecção experimental em equinos com *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) (Sarcostigophora: Trypanomatidae)**. 1996. 134 f. Tese (Livre Docência em Clínica Médica) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.