

Proteinogramas séricos de ratos Wistar experimentalmente infectados com *Trypanosoma evansi*

[Serum protein concentrations in Wistar rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*]

M.C.A. Teixeira¹, L.C. Marques^{1*}, F.A. Cadioli², J.J. Fagliari¹, R.Z. Machado¹, P.C. Silva¹

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n
14884-900 – Jaboticabal, SP

²Curso de Medicina Veterinária - FOA-UNESP – Araçatuba, SP

RESUMO

Estabeleceu-se o perfil eletroforético de proteínas séricas de ratos Wistar experimentalmente infectados com *Trypanosoma evansi*, utilizando-se 40 ratos, distribuídos em oito grupos de cinco animais cada. Um grupo foi mantido como testemunho (G1), e os demais (G2 a G8) foram inoculados, via intraperitoneal, com cerca de 10^3 tripomastigota de *T. evansi*. Amostras de sangue para obtenção de soro foram coletadas no quinto (G2), 10º (G3), 15º (G4), 30º (G5), 45º (G6), 60º (G7) e 75º (G1 e G8) dia após as inoculações. O fracionamento das proteínas foi realizado pela técnica SDS-PAGE. Foram identificadas 31 proteínas, sendo sete de fase aguda: ceruloplasmina (101KD), hemopexina (83KD), transferrina (75KD), albumina (66KD), antitripsina (60KD), haptoglobina (44KD) e glicoproteína ácida (38KD). As proteínas com pesos moleculares 12KD; 22KD; 25KD; 28KD; 32,5KD; 35KD; 53,5KD; 63KD e 72KD apareceram apenas nos ratos inoculados com *T. evansi*.

Palavras-chave: rato, proteína, eletroforese, *Trypanosoma evansi*

ABSTRACT

This study established the electrophoretic profile of serum proteins of Wistar rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. For such, 40 rats were allocated into eight groups of five animals. A group was kept as control (G1) and the others (G2 to G8) were intraperitoneally inoculated with 1.0×10^3 tripomastigote of *T. evansi*. Blood samples were collected at 5th (G2), 10th (G3), 15th (G4), 30th (G5), 45th (G6), 60th (G7), and 75th (G1 and G8) days after inoculation (DAI). The serum protein concentrations were determined by means of sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis. Thirty-one distinct proteins were identified, seven of these were identified as acute phase proteins: ceruloplasmin (110KD), hemopexin (83KD), transferrin (75KD), albumin (66KD), antitrypsin (60KD), haptoglobin (44KD), and acid glycoprotein (38KD). The proteins with molecular weights 12KD; 22KD; 25KD; 28KD; 32,5KD; 35KD; 53,5KD; 63KD, and 72KD were found only in infected rats.

Keywords: rat, protein, electrophoresis, *Trypanosoma evansi*

INTRODUÇÃO

Trypanosoma evansi é um protozoário flagelado (Wakelin, 1996) de grande impacto econômico em animais domésticos e selvagens. Este

hemoflagelo é o agente causal da “surra” (Hoare, 1972), doença amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, ocorrem principalmente em equídeos, cães, capivaras e quatis (Aquino et al., 2002).

Recebido em 27 de novembro de 2007

Aceito em 20 de outubro de 2008

*Autor para correspondência (corresponding author)

E-mail: lmarques@fcav.unesp.br

O curso da doença pode ser subagudo, agudo ou crônico (Singh e Chaudhri, 2002). O diagnóstico da enfermidade é relativamente simples em animais com infecções agudas, quando os parasitas estão presentes em grande número no sangue periférico; entretanto, é mais difícil nas infecções crônicas quando a parasitemia é baixa e intermitente (Oliveira et al., 1989). Hospedeiros infectados pelo *T. evansi* exibem lesões de natureza inflamatória (Marques, 1996; Cadioli et al., 2006). As proteínas de fase aguda refletem a gravidade da reação inflamatória, podendo auxiliar no diagnóstico e prognóstico, bem como no entendimento de mecanismos patogênicos de doenças (Godson et al., 1996).

O fracionamento eletroforético é um dos mais confiáveis métodos de identificação e quantificação de proteínas dos fluidos corporais (Kaneko et al., 1997). Assim, o objetivo principal deste estudo foi determinar o perfil eletroforético das proteínas séricas de ratos Wistar, experimentalmente infectados com *T. evansi*, utilizando-se como matriz o gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE).

MATERIAL E MÉTODOS

A cepa de *T. evansi* empregada foi isolada de um cão naturalmente infectado (Moreira e Machado, 1985). Foram utilizados 40 ratos Wistar, machos, com peso médio de 300 gramas. Destes, cinco ratos foram mantidos como testemunhos (G1) e outros 35 foram subdivididos aleatoriamente, em sete grupos de cinco animais (G2 a G8), e inoculados, via intraperitoneal, com cerca de $1,0 \times 10^3$ tripomastigotas de *T. evansi*.

As pesquisas de tripomastigotas no sangue periférico dos animais foram realizadas de cinco em cinco dias após as inoculações (DAI). Uma gota de sangue da ponta da cauda de cada roedor foi colhida e acondicionada em frascos limpos e secos contendo EDTA na proporção de 2mg/ml de sangue (Rosenfeld, 1955). A parasitemia foi avaliada pelo exame da gota espessa.

Os ratos foram anestesiados em câmara contendo éter etílico, e a colheita de sangue para obtenção do soro foi realizada por punção cardíaca no quinto (G2), 10° (G3), 15° (G4), 30° (G5), 45° (G6), 60° (G7) e 75° (G1 e G8) dia. Após esse

procedimento, os animais foram submetidos à eutanásia em câmara contendo éter etílico.

Para determinação da proteína sérica total, empregou-se o método do biureto¹. Para fracionamento, identificação e quantificação das proteínas séricas, foi realizado o fracionamento eletroforético em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), utilizando-se a técnica de Laemmli (1970). Os pesos moleculares e as concentrações das frações protéicas foram determinados mediante densitometria. Como referência, foi utilizada solução marcadora com pesos moleculares 29; 45; 66; 97,4; 116 e 205 quilodáltons (KD), além de proteínas purificadas (albumina, IgG, ceruloplasmina, haptoglobina, α_1 - antitripsina e transferrina).

Utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso com um grupo submetido a avaliações em sete momentos. Quando se constatou significância entre grupos e momentos, aplicou-se teste t para comparação das médias.

RESULTADOS

Pelo exame da gota espessa, evidenciaram-se parasitemias em todos os ratos inoculados com *T. evansi* (G2 a G8).

Trinta e uma proteínas, com pesos moleculares variando de 12KD a 165KD, foram encontradas em todos os ratos (Tab.1). Ceruloplasmina (101KD), hemopexina (83KD), transferrina (75KD), albumina (66KD), antitripsina (60KD), haptoglobina (44KD) e glicoproteína ácida (38KD) são consideradas proteínas de fase aguda. As proteínas com pesos moleculares 12KD, 22KD, 25KD, 28KD, 32,5KD, 35KD, 53,5KD, 63KD e 72KD apareceram apenas nos ratos inoculados com *T. evansi*.

No G2, verificou-se aumento significativo do teor sérico de hemoglobina e das proteínas com pesos moleculares 53KD, 33KD, 13KD e 12KD e reduções significativas da fosforilase, antitripsina, imunoglobulina de cadeia pesada, haptoglobina, imunoglobulina de cadeia leve e da proteína de peso molecular 135KD. No G3, notaram-se aumentos significativos das concentrações séricas de transferrina,

¹Labtest Sistema Diagnóstico Ltda - Belo Horizonte, Brasil.

Proteinogramas séricos de ratos...

hemoglobina e das proteínas com pesos moleculares 158KD, 53,5KD, 32,5KD, 13KD e 12KD e reduções de imunoglobulina A, ceruloplasmina, fosforilase e das proteínas com pesos moleculares 165KD, 135KD e 95KD. No G4, reduções significativas foram verificadas nas concentrações de imunoglobulina A, albumina e da proteína com peso molecular 135KD. No G5, aumentos significativos das concentrações séricas das proteínas com pesos moleculares 53KD e 35KD e reduções significativas foram verificados nas concentrações de imunoglobulina A, haptoglobina e das proteínas com pesos moleculares 165KD, 135KD e 33KD. No G6, foram verificados

aumentos significativos da proteína total, da imunoglobulina de cadeia leve, da antitripsina, das proteínas com pesos moleculares 165KD e 53KD e reduções significativas da imunoglobulina A, ceruloplasmina, haptoglobina, glicoproteína ácida e da proteína com peso molecular 40KD. No G7, reduções significativas foram verificadas nas concentrações de imunoglobulina A, hemopexina, albumina, glicoproteína ácida e das proteínas com pesos moleculares 135KD e 40KD. No G8, ocorreram reduções significativas da glicoproteína ácida e das proteínas com pesos moleculares 95KD e 40KD.

Tabela 1. Médias das concentrações séricas de proteína total (g/dl) e das frações protéicas (mg/dl), com respectivos pesos moleculares (PM), de ratos Wistar testemunhos (G1) e inoculados com *Trypanosoma evansi* (G2 a G8) e significância do teste t

Grupos	Médias (g/dl)								
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	
Proteína total	6,38	5,86	7,58	5,98	6,34	7,28*	5,93	6,00	
Fração protéica									
NI	165KD	34,26	13,17	19,58*	23,64	20,41**	45,52*	18,59	22,49
NI	158KD	17,86	83,07	283,20**	18,28	18,80	24,41	12,92	81,26
IgA	142KD	474,63	351,82	147,23**	221,86**	129,97*	90,33**	25,02**	291,77
NI	135KD	224,04	143,62*	57,49**	152,77*	117,25*	141,90	32,23**	107,93
NI	110KD	35,63	35,82	50,30	74,49	109,35	112,97	105,36	31,45
Ceruloplasmina	101KD	24,11	34,29	0,56**	32,29	31,82	0,00**	24,32	11,96
NI	95KD	23,47	25,54	0,00**	10,36	29,53	23,52	46,20	2,31*
Fosforilase	92KD	11,70	5,23**	3,16**	11,57	8,74	14,41	10,89	7,92
Hemopexina	83KD	10,28	14,64	5,15	6,10	4,94	5,23	2,20*	9,44
Transferrina	75KD	428,89	501,48	1039,59**	457,59	512,40	607,80	549,92	568,48
NI (a)	72KD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	97,98	0,00	0,00
Albumina	66KD	3504,03	3314,04	3439,83	3177,57**	3324,10	3630,63	2902,36*	3055,44
NI	63KD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	114,45	221,26	25,86
Antitripsina	60KD	660,59	455,79**	831,52	768,97	792,13	1040,97*	813,21	825,85
IgG de cadeia pesada	57KD	326,45	127,11**	319,38	346,81	407,84	370,09	362,86	181,46
NI	53,5KD	0,00	7,96	28,37**	0,53	0,00	0,00	0,00	10,16
NI	53KD	43,86	67,72**	38,33	39,20	81,77*	82,64*	57,28	40,64
Haptoglobina	44KD	10,76	0,00**	8,34	6,54	1,87**	1,16**	5,98	12,52
NI	40KD	72,29	87,30	68,97	69,45	56,64	37,57**	34,12**	47,55*
Glicoproteína ácida	38KD	25,72	22,00	26,78	15,01	12,62	7,97*	9,32*	7,46*
NI	36KD	22,74	38,07	12,62	16,50	15,14	10,68	9,35	7,11
NI	35KD	0,00	0,00	0,00	0,00	33,97**	0,00	0,00	0,00
NI	33KD	96,14	152,43**	109,03	104,90	0,00**	118,54	103,74	96,76
NI	32,5KD	0,00	0,00	283,82*	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IgG de cadeia leve	30KD	329,23	139,09**	596,01	380,41	490,55	556,67**	492,68	435,34
NI	28KD	0,00	0,00	1,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
NI	25KD	0,00	0,00	30,30	45,04	34,88	90,57	51,94	20,64
NI	22KD	0,00	0,00	0,00	0,00	12,80	0,00	0,00	0,00
Hemoglobina	16KD	1,87	45,94**	52,80**	0,00	1,89	0,00	3,26	12,06
NI	13KD	1,40	104,58*	73,55*	0,00	4,03	0,00	14,58	46,92
NI	12KD	0,00	89,07*	57,98**	0,00	0,00	0,00	15,39	39,25

NI (a): não identificada. *Significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade. G1: grupo testemunho; G2: 5 dias após a inoculação (DAI); G3: 10 DAI; G4: 15 DAI; G5: 30 DAI; G6: 45 DAI; G7: 60 DAI; G8: 75 DAI.

DISCUSSÃO

Foi possível identificar, em todos os ratos, 31 proteínas distintas, com pesos moleculares que

variaram de 12 a 165KD. Passos (2004), ao trabalhar com ovinos infectados com a mesma cepa de *T. evansi*, relatou a presença de 45 frações protéicas, com pesos moleculares que

variaram de 12KD a 205KD. Dentre as proteínas identificadas nominalmente em ovinos e as encontradas nos ratos, certificou-se que a proteína C-reativa e a hemopexina apareceram nos ovinos e nos ratos, respectivamente, e as demais proteínas nominalmente identificadas foram encontradas em ambas as espécies animais. Os ovinos apresentaram baixa parasitemia, confirmada apenas na prova biológica, e albergaram *T. evansi* por longo período de tempo, sem manifestação clínica de doença, enquanto os ratos apresentaram alta parasitemia, testada pelo método parasitêmico direto (gota espessa) e sinais característicos da enfermidade. Há hipótese de que a proteína C-reativa seja um dos fatores que participa da limitação da parasitemia (Passos, 2004) e, contrariamente à hemopexina, pode ser um substrato essencial à multiplicação dos parasitas. Assim, a susceptibilidade dos diferentes hospedeiros ao *T. evansi* possivelmente esteja relacionada, também, à indução da síntese de algumas proteínas específicas.

Nos ratos infectados com *T. evansi*, verificou-se aumento significativo da proteína total sérica no 45º dia após infecção. Vermam e Gautam (1982) e Marques (1996) não observaram em bovinos e eqüinos infectados com *T. evansi* alterações significativas da proteína total sérica. Herrera (1998) e Passos (2004) verificaram em quatis e em ovinos infectados aumento do teor sérico de proteína total. Em búfalos (Kathira e Avastthi, 1985) e em cães (Sandoval et al., 1994) infectados por este hemoparasita, há relatos de diminuição dessa variável. Assim, há indícios de que cada espécie animal responde de maneira diferente a estímulos semelhantes.

A IgA apresentou reduções significativas entre o 10º, 15º e 60º DAI. A IgA está presente nas secreções externas (lágrima, saliva, sistema respiratório e gastrointestinal) e atua na defesa local e de superfícies corporais, limitando invasão bacteriana e viral (Jain, 1993). As implicações fisiopatológicas da diminuição da IgA em ratos infectados por *T. evansi* ainda são desconhecidas, portanto novos estudos são necessários para melhor esclarecer estes aspectos.

A ceruloplasmina apresentou redução significativa nos estágios inicial (10º DAI) e intermediário (45º DAI) da evolução da doença.

Não há, na literatura consultada, dados de proteinogramas em ratos infectados com tripanossomos que permitam comparações acuradas. Entretanto, em processos inflamatórios agudos causados por outros agentes (Fagliari et al., 1997; 2003); há indícios de que esta proteína aparece apenas na fase aguda de evolução. Solter et al. (1991) demonstraram que a ceruloplasmina foi mais sensível para detecção de doenças inflamatórias em cães. Cães com gastrite hemorrágica aguda causada pelo parvovírus aparentemente apresentaram níveis de ceruloplasmina mais baixos que os de haptoglobina e glicoproteína ácida (Kogika et al., 2003).

A fosforilase apresentou reduções significativas entre o quinto e 10º DAI. Na literatura consultada, não foi possível identificar a função desta proteína frente a qualquer tipo de injúria. Assim, o papel dessa proteína em ratos infectados com *T. evansi* tem significado ainda desconhecido. A única evidência é que ela apareceu apenas na fase aguda da infecção.

A hemopexina apresentou redução significativa no 60º DAI. Do mesmo modo, ainda não se conhece a função dessa proteína em ratos infectados com *T. evansi*, mas as evidências demonstram que ela só apareceu na fase crônica da infecção.

A transferrina apresentou aumento significativo no 10º DAI. Ratos infectados com *T. evansi* desenvolveram anemia hemolítica, assim, possivelmente, o aumento dessa proteína esteja correlacionado com esse fator.

A albumina apresentou reduções significativas no 15º e 60º DAI. Sandoval et al. (1994), ao trabalharem com cães infectados com *T. evansi*, também relataram diminuição dessa proteína. Passos (2004) relatou que os teores séricos de albumina em ovinos foram relativamente menores durante o período experimental, apesar do aumento das globulinas. Monzon e Villavicencio (1990), ao usarem Hamster infectados com *T. evansi* e compararem os resultados encontrados com eqüinos, relataram, em ambas as espécies, decréscimo significativo das frações de albumina e aumento de gama-globulinas. Mudanças em diferentes frações protéicas do soro também foram encontradas em camelos (Boid et al., 1980), bezerras (Vermam e

Gautam, 1979) e equínos (Brem et al., 1984) infectados com *T. evansi*, cujo fator comum foi o aumento de frações de gamaglobulina e diminuição dos teores de albumina.

A antitripsina apresentou redução significativa no quinto DAI e aumento significativo no 45º DAI. Embora essa proteína seja considerada de fase aguda positiva, elevando-se imediatamente após a instalação de processos inflamatórios ou endotoxêmicos (Godson et al., 1996), verificou-se que ela também apareceu nos ratos infectados com *T. evansi* na fase crônica da infecção. Aumento significativo da concentração plasmática de antitripsina foi observado em pôneis com laminite e bezerros com pneumonia (Fagliari et al., 1997; 2003).

A IgG de cadeia pesada apresentou redução significativa no quinto DAI. Já a IgG de cadeia leve apresentou redução significativa no quinto e aumento significativo no 45º DAI. Goodwin (1970), citado por Vermam e Gautam (1982), relatou que grande quantidade de imunoglobulinas são produzidas nas infecções por *T. brucei*, mas parece não ter especificidade e são incapazes de fornecer total proteção ao hospedeiro. Na literatura consultada, há relatos da presença de imunoglobulinas não específicas que aparecem em infecções causadas por *T. evansi* (Vermam e Gautam, 1982). Segundo Jain (1993), as imunoglobulinas no soro e no complemento também são alteradas durante infecções causadas por tripanossomos.

As tripanossomíases africanas induzem pronunciada resposta de anticorpos (Le Ray, 1975). Entretanto, a natureza exata das alterações em determinados órgãos durante a infecção pelo tripanossomo e os eventos que levam a consequências fatais em animais ainda não são bem esclarecidos (Seed, 1969). Talvez a incidência da resposta imune específica ao tripanossomo esteja relacionada à habilidade do parasita em apresentar variação antigênica, levando à persistência da infecção (Vickerman, 1978).

A haptoglobina apresentou reduções significativas nos estágios inicial (quinto DAI) e intermediário (30º e 45º DAI) do período de evolução da doença. No entanto, tais observações diferem das encontradas por Ngure et al. (1997). Estes, ao trabalharem com camundongos

infectados com *T. brucei*, verificaram que a haptoglobina somente foi detectada dois dias após a inoculação, e sua concentração máxima foi verificada aos 10 dias de evolução. Passos (2004) verificou elevação e diminuição dessa proteína em vários períodos, nos ovinos infectados com a mesma cepa.

A glicoproteína ácida apresentou reduções significativas no 45º, 60º e 75º DAI. Estes resultados diferem dos encontrados em pôneis com laminite (Fagliari et al., 1997), em cães infectados com parvovírus (Kogika et al., 2003), em bezerros infectados com *Mannheimia haemolytica* (Fagliari et al., 2003) e em bovinos infectados com *Theileria annulata* (Glass et al., 2003), que apresentaram aumento da glicoproteína ácida.

A hemoglobina apresentou aumento significativo no quinto e 10º DAI. O aumento desta proteína no soro dos ratos infectados com *T. evansi*, provavelmente, deve-se à hemólise intravascular. Anemia é um achado comum em animais infectados por tripanossomos (Boero, 1974). A gênese desse distúrbio é multifatorial, mas é sabido que a hemólise intravascular é um dos fatores implicados (Aquino, 1997) e a severidade da anemia usualmente reflete a intensidade e a duração da parasitemia (Murray e Dexter, 1988).

CONCLUSÕES

O proteinograma, embora não forneça informações específicas, pode auxiliar no diagnóstico das tripanossomíases. Dentre as proteínas encontradas, sete são consideradas como proteínas de fase aguda: ceruloplasmina, hemopexina, transferrina, albumina, antitripsina, haptoglobina e glicoproteína ácida. Assim, a avaliação dos teores séricos das proteínas de fase aguda constitui um importante teste de auxílio diagnóstico, de manejo e verificação da evolução das enfermidades inflamatórias, qualquer que seja a sua origem. Além das proteínas de fase aguda, a identificação de outras frações protéicas presentes no plasma ou no soro sanguíneo torna-se, também, útil como indicadora do estado de sanidade e/ou imunológico dos animais. As proteínas 12KD, 22KD, 25KD, 28KD, 32,5KD, 35KD, 53,5KD, 63KD e 72KD somente aparecem em ratos inoculados com *T. evansi*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AQUINO, L.P.C.T. *Aspectos clínicos, imunológicos e patológicos da infecção experimental em cães por Trypanosoma evansi*. 1997. 102f. Tese (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- AQUINO, L.P.C.T.; MACHADO, R.Z.; ALESSI, A.C. et al. Hematological, biochemical and anatomopathological aspects of the experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, p.8-18, 2002.
- BOERO, J.J. *Parasitosis animales*. 3.ed. Buenos Aires: Eudeba, 1974. 264p.
- BOID, R.; LUCKINS, A.G.; GRAY, P.F. et al. Serum immunoglobulin levels and electrophoretic patterns of serum proteins in camels infected with *Trypanosoma evansi*. *Vet. Parasitol.*, v.6, p.333-345, 1980.
- BREM, J.J.; MONZON, C.M.; MACHADO, O.A. Cambios hematológicos en la Tripanosomiasis equina experimental (*T. equinum*, Vogés 1901). *Rev. Mil. Vet.*, v.32, p.413-420, 1984.
- CADIOLI, F.A.; MARQUES, L.C.; MACHADO, R.Z. et al. Experimental *Trypanosoma evansi* infection in donkeys: hematological, biochemical and histopathological changes. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, p.749-756, 2006.
- FAGLIARI, J.J.; WEISS, D.J.; McCLENANHAN, D. et al. Serum protein concentration in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.55, p.383-387, 2003.
- FAGLIARI, J.J.; McCLENANHAN, D.; EVANSON, B.S. Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. *Am. J. Vet. Res.*, v.59, p.1234-1237, 1997.
- GLASS, E.J.; CRAIGMILE, S.C.; SPRINGBETT, A. et al. The protozoan parasite, *Theileria annulata*, induces a distinct acute phase protein response in cattle that is associated with pathology. *Parasitology*, v.33, p.1409-1418, 2003.
- GODSON, D.L.; CAMPOS, M.; ATTAH-POKU, S.M. et al. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.51, p.277-292, 1996.
- GOODWIN, L.G. the pathology of African Trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Méd. Hyg.*, v.64, p.797-817, 1970.
- HERRERA, H.M. *Infecção experimental em quatis (Nasua nasua) com tripanosoma evansi (Steel, 1885) Balbiani 1888*. 1998. 91f. Tese (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- HOARE, H.E. *The trypanosomiasis of mammals: a zoological monograph*. Oxford: Blackwell, 1972. p.55-593.
- JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea e Febiger, Philadelphia, 1993. 417p.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6 ed. San Diego: Academic, 1997. 932p.
- KATHIRA, L.G.; AVASTTHI, B.L. Some biochemical changes in blood and serum of buffalo calves experimentally inoculated with *Tripanossoma evansi*. *Indian. Vet. J.*, v.62, p.289-293, 1985.
- KOGIKA, M.M.; PEREIRA, D.A.; ELIAS, F. et al. Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e a-glicoproteína ácida em cães com gastrenterite hemorrágica. *Cienc. Rural*, v.33, p.513-517, 2003.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p.680-685, 1970.
- LE RAY, D. Structures antigeniques de *Trypanosoma brucei* (protozoa, Kinetoplastida). Analyse immunoelectrophoretique et étude comparative. *Soc. Bel. Med. Trop.*, v.55, p.129-311, 1975.
- MARQUES, L.C. Infecção experimental em eqüinos com *Trypanosoma evansi* Steel, 1885 (*Sarcomastigophora: Trypanosomatidae*). 1996. 134f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Proteinogramas séricos de ratos...

- MOREIRA, R.D.; MACHADO, R.Z. Identificação e isolamento de *Trypanosoma evansi* em cão do município de Camapuã, MS In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINÁRIAS, 10., 1985. Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: FCA-UNESP, 1985. p.66. (Resumo).
- MONZON, C.M.; VILLAVICENCIO, V.I. Serum proteins in guinea-pigs and horse infected with *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885). *Vet. Parasitol.*, v.36, p.295-301, 1990.
- MURRAY, M.; DEXTER, T.M. Anemia in bovine african trypanosomiasis. *Acta Trop.*, v.45, p.389-442, 1988.
- NGURE, R.M.; ECKERSALL, P.D.; JENNINGS, F.W. et al. Major acute phase response of haptoglobin and serum amyloid-P following experimental infection of mice with *Trypanosoma brucei brucei*. *Parasitol. Int.*, v.46, p.247-254, 1997.
- OLIVEIRA, T.C.G.; SOGAYAR, R.; SALATA, E. Estudos sorológicos de infecções experimentais por *Trypanosoma evansi* em cobaias. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v.31, p.95-99, 1989.
- PASSOS, C.B. *Infecção experimental em ovinos com Trypanosoma evansi (Steel, 1885) (Sarcocystis sp.: Trypanomatidae)*. 2004. 236f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- ROSENFELD, G. Etilenodiamina tetracética dissódica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. *Rev. Clin.*, v.1, p.65-71, 1955.
- SANDOVAL, G.L.; COPPO, N.B.; NEGRETTE, M.S. et al. Alterações bioquímicas e histopatológicas de um cão e ratos infectados com *Trypanosoma evansi*. *Hora Vet.*, v.14, p.53-55, 1994.
- SEED, J.R. *Trypanosoma ganbiense* and *T. lewisi*: Increased vascular permeability and skin lesions in rabbits. *Exp. Parasitol.*, v.26, p.214-223, 1969.
- SINGH, A.; CHAUDHRI, S.S. Comparison of efficiency of parasitological methods with Ag-ELISA in *Trypanosoma evansi* infected crossbred calves. *Indian. J. Anim. Sci.*, v.72, p.117-119, 2002.
- SOLTER, P.F.; HOFFMANN, W.E.; HUNGERFOLD, L.L. et al. Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, v.52, p.1738-1742, 1991.
- VERMAM, 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.
- VERMAM, 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 tests. *Indian. Vet. J.*, v.54, p.809-813, 1982.
- VICKERMAN, K. Antigenic variation in trypanosomes. *Nature*, v.273, p.803-813, 1978.
- WAKELIN, D. *Immunity to parasites: how parasitic are controlled*. 2.ed. Cambridge: University Press, 1996. p.83-97.