

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 06/11/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PERFIL DE CITOCINAS E SUA RELAÇÃO COM A
PARASITEMIA EM BOVINOS EXPERIMENTALMENTE
INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax***

Otavio Luiz Fidelis Junior

Médico Veterinário

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PERFIL DE CITOCINAS E SUA RELAÇÃO COM A
PARASITEMIA EM BOVINOS EXPERIMENTALMENTE
INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax***

Otavio Luiz Fidelis Junior

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Antonio Cadioli

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Rogério André

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária).

2017

F451p Fidelis Junior, Otavio Luiz
Perfil de citocinas e sua relação com a parasitemia em bovinos experimentalmente infectados por *Trypanosoma vivax* / Otavio Luiz Fidelis Junior. -- Jaboticabal, 2017
xii, 67 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Fabiano Antonio Cadioli
Coorientador: Marcos Rogério André
Banca examinadora: Rosangela Zacarias Machado, Luiz Carlos Marques, Márcia Mariza Gomes Jusi, Lucia Padilha Cury Tomaz de Aquino

Bibliografia

1. Doença dos bovinos. 2. Tripanossomíase. 3. Citocinas. 4. qPCR. 5. RT-qPCR. 6. ELISA. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.937:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PERFIL DE CITOCINAS E SUA RELAÇÃO COM A PARASITEMIA EM BOVINOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*

AUTOR: OTAVIO LUIZ FIDELIS JUNIOR

ORIENTADOR: FABIANO ANTONIO CADIOLI

COORIENTADOR: MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em MEDICINA VETERINÁRIA, área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FMVA/UNESP - Araçatuba


Prof. Dr. LUIZ CARLOS MARQUES

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. ROSANGELA ZACARIAS MACHADO

Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Pesquisadora Dra. MÁRCIA MARIZA GOMES JUSI

IMUNODOT Diagnósticos Ltda. / Jaboticabal/SP


Profa. Dra. LUCIA PADILHA CURY TOMAZ DE AQUINO

Departamento de Medicina Veterinária / UNICENTRO / Guarapuava/PR

Jaboticabal, 06 de novembro de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Otavio Luiz Fidelis Junior, brasileiro, nascido em 05 de abril de 1986 em São Paulo – SP, ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária na Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Câmpus Araçatuba em 2005, colando grau em dezembro de 2009. Cursou Residência Médico Veterinária pela mesma instituição na área de Clínica Médica, Cirurgia e Anestesiologia de Grandes Animais, entre fevereiro de 2010 e janeiro de 2012. Em março de 2012 ingressou no mestrado pelo programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Clínica Médica Veterinária, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Unesp, Câmpus de Jaboticabal, sendo bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo nº 2011/15945-5), obtendo o título de mestre em medicina veterinária em fevereiro de 2014. Em março de 2014 ingressou no doutorado pela mesma instituição, sendo novamente bolsista da FAPESP (processo número 2014/10572-4). Entre janeiro e julho de 2017 realizou doutorado sanduiche no “Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO)” em Brisbane - Austrália, recebendo Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE) da FAPESP (processo número 2016/17401-6).

“Encontrar a verdade é difícil e o caminho é acidentado. Como buscadores da verdade, o melhor é não julgar e não confiar cegamente nos escritos dos antigos. É preciso questionar e examinar criticamente o que foi escrito, por todos os lados. É preciso aceitar apenas o argumento e a experiência, em vez do que qualquer pessoa diz, pois todo ser humano é vulnerável a todos os tipos de imperfeição. Como buscadores da verdade, devemos suspeitar e questionar nossas próprias ideias ao investigarmos fatos, para evitar preconceitos ou pensamentos descuidados. Sigam este caminho e a verdade vos será revelada.”

Alhazen (Abu Ali Al-Hasan Ibn Al-Haitham,
945-1040 D.C.; físico e matemático)

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Maria Cecilia Roquette Fidelis e Otavio Luiz Fidelis, que são os pilares da minha vida e sempre me apoiaram tanto nos momentos bons quanto nos difíceis, me estimulando a seguir em frente e alcançar meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pois sem eles nada seria.

Aos meus pais e familiares, por todo carinho, dedicação e educação, que me forneceram durante a vida.

Ao Professor Dr. Fabiano Antonio Cadioli, pela orientação desde a graduação e, acima de tudo, pela amizade e confiança.

Ao Professor Dr. Marcos Rogério André, meu coorientador, pela dedicação em ajudar e pelas cobranças excessivas em andar na linha, e acima de tudo, por compartilhar seu conhecimento comigo.

À Professora Dra. Rosangela Zacarias Machado, pela sabedoria, disposição e algumas broncas que me ajudaram a evoluir como pessoa e pesquisador.

A Dr. Gene Louise Wijffels, por prontamente ter me acolhido em seu laboratório e me auxiliado nas análises, além de toda paciência e conhecimento a mim transmitidos.

Aos colegas do Laboratório de Imunoparasitologia Veterinária, UNESP – Jaboticabal, pela amizade e ajudas providenciais.

Aos moradores e ex-moradores da República Antro do HV pela amizade, cooperação e grandes momentos, valeu família.

Aos Funcionários do CSIRO por toda colaboração, paciência e carinho durante meus meses na Austrália.

Ao pessoal com quem convivi na Austrália pelas experiências e conversas.

A todos aqueles que não citei anteriormente, mas que contribuíram para meu desenvolvimento pessoal e acadêmico direta ou indiretamente.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela Bolsa de doutorado (Processo número 2014/10572-4) e Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (Processo número 2016/17401-6) concedidos.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	13
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3. REFERÊNCIAS	20
CAPÍTULO 2 – Comparison of traditional and molecular techniques for <i>Trypanosoma vivax</i> detection in experimentally infected cattle	33
1. INTRODUCTION	35
2. MATERIAL AND METHODS.....	35
2.1. Experimental infection and sample collection	35
2.2. Parasitological methods	36
2.3. Serological methods.....	36
2.4. Molecular methods	37
2.5. Statistical analysis.....	38
3. RESULTS	38
4. DISCUSSION	39
5. REFERENCES	41
CAPÍTULO 3 - Relationship between parasitemia and cytokine profile in cattle experimentally infected by <i>Trypanosoma vivax</i>	48
1. INTRODUCTION	50
2. MATERIAL AND METHODS.....	50
2.1. Experimental infection and sample collection	50
2.2. RNA extraction and cDNA transcription	51
2.3. Cytokine assessment by RT-qPCR	51
2.4. Cytokine assessment by Sandwich ELISA	52
3. RESULTS	53
3.1. RNA extraction and evaluation	53
3.2. Cytokine assessment by RT-qPCR	53
3.3. Cytokine assessment by Sandwich ELISA.....	53
4. DISCUSSION	56
5. REFERENCES	59



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

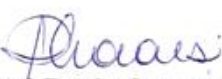


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 13219/15 do trabalho de pesquisa intitulado **“Perfil de citocinas e sua relação com a parasitemia em bovinos experimentalmente infectados por Trypanosoma vivax”**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fabiano Antonio Cadioli está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 07 de agosto de 2015.

Jaboticabal, 07 de agosto de 2015.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

PERFIL DE CITOCINAS E SUA RELAÇÃO COM A PARASITEMIA EM BOVINOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*

RESUMO – Surtos por *Trypanosoma vivax* têm ocorrido com frequência cada vez maior em rebanhos bovinos no Brasil, porém como a enfermidade não é considerada um problema para o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não há controle oficial nem registros precisos sobre sua ocorrência, muito embora *T. vivax* cause grandes prejuízos aos rebanhos onde ocorre. Estabelecer o diagnóstico dessa enfermidade é tarefa desafiadora, pois muitos aspectos clínicos, imunológicos e laboratoriais não estão completamente elucidados. No presente estudo foram avaliadas diferentes técnicas utilizadas para o diagnóstico de *T. vivax*, a fim de verificar a melhor maneira de usá-las durante o curso da doença. Também se verificou a variação do perfil de citocinas (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TNF α e IFN γ) associada à flutuação da parasitemia de *T. vivax* em três bovinos fêmeas Girolanda experimentalmente infectados (E1 a E3) com $2,0 \times 10^7$ tripomastigotas de *T. vivax*, isolado "Lins". Para tanto foram utilizadas amostras sanguíneas obtidas sete dias antes da inoculação (D-7), no dia da inoculação (D0), no dia subsequente a inoculação (D1) e posteriormente a cada sete dias até 119 dias após infecção (DAI). Os métodos moleculares demonstraram maiores taxas de detecção (61,1%), enquanto o melhor teste parasitológico detectou apenas 44,4%. Os métodos sorológicos, RIFI e ELISA, detectaram soropositividade em 94,4% e 90,7% das amostras sabidamente positivas, respectivamente. As análises revelaram que a fase aguda da enfermidade pode prolongar-se até 42 DAI, mais do que previamente relatado. O perfil de citocinas apresentado por bovinos no decorrer da infecção apresentou padrão individual e não foi encontrada correlação entre a expressão e a concentração plasmática das citocinas avaliadas. Resposta Th1 foi verificada durante a fase aguda da enfermidade e, no início da fase crônica, foi detectado um aumento das citocinas Th2. Os resultados obtidos contribuirão no entendimento da fisiopatogenia da doença causada por *T. vivax* e auxiliarão para um refinamento do diagnóstico desta enfermidade.

Palavras-Chave: doença dos bovinos; tripanossomíase; citocinas, qPCR; RT-qPCR; ELISA

CYTOKINES PROFILE AND ITS RELATION WITH PARASITEMIA IN CATTLE EXPERIMENTALLY INFECTED BY *Trypanosoma vivax*

ABSTRACT – *Trypanosoma vivax* outbreaks have been occurring with increasing frequency in Brazilian herds, although the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) does not consider this disease a problem, there is no official control or accurate records of its occurrence. *T. vivax* causes great damage to the livestock where it occurs. Establish the disease diagnosis is a challenging task, since many clinical, immunological and laboratory aspects are not completely elucidated. In the present study were evaluated several techniques for *T. vivax* diagnosis in order to verify the best way of using them during the course of the disease. It was also to evaluate the cytokine profile (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TNF α and IFN γ) associated with the parasitemia in three Girolando cows (E1 to E3) experimentally infected with 2.0×10^7 trypomastigotes of *T. vivax*, isolate "Lins". Blood samples obtained seven days before inoculation (D-7), on the day of inoculation (D0), the day after inoculation (D1) and then every seven days up to 119 days after infection (DAI) were used. Molecular methods showed higher detection rates (61.1%), while the best parasitological test detected only 44.4%. The serological methods, RIFI and ELISA, detected seropositivity in 94.4% and 90.7% of the samples known to be positive, respectively. The analyses revealed that the acute phase of the disease may extend up to 42 days after infection (DAI), longer than previously reported. The cytokine profile presented by cattle, during the course of the infection, presented an individual pattern and no correlation was found between the expression and the plasmatic concentration. Th1 response was verified during the acute phase of the disease and, at the beginning of the chronic phase, an increase of Th2 cytokines was detected. The results obtained will help in understanding the pathophysiology of illness caused by *T. vivax* and may contribute to a refinement of the disease diagnosis.

Key words: bovine diseases; trypanosomiasis; cytokine; qPCR; RT-qPCR; ELISA

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

Tripanossomíases são enfermidades cosmopolitas que acometem humanos e animais. *Trypanosoma brucei*, *T. congolense*, *T. vivax* e *T. evansi* causam importantes prejuízos econômicos em rebanhos animais, sendo *T. vivax* responsável por vultosas perdas econômicas na bovinocultura na África, Américas Central e do Sul (HOARE, 1972; DÁVILA; SILVA, 2000). Na América do Sul, as espécies de tripanossomos mais importantes são *T. cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas em humanos e cães, *T. evansi*, causador de distúrbios neurológicos em equídeos e outros mamíferos e *T. vivax* que acarreta mortes e infertilidade em ruminantes (DÁVILA; SILVA, 2000).

Em todo planeta infecções por tripanossomos patogênicos em rebanhos animais têm ocorrido com frequência cada vez maior (JONES; DÁVILA, 2001; OLIVEIRA et al., 2009; GIORDANI et al., 2016). No Brasil, inicialmente foram descritos surtos de tripanossomíase, por *T. vivax*, na região Amazônica (PEREIRA; ABREU, 1978; SERRA-FREIRE, 1981) e do Pantanal (SILVA et al., 1996), áreas estas consideradas endêmicas para a enfermidade. Nos últimos anos a ocorrência deste hemoparasita foi observadas nos estados do Maranhão (FEITOSA JÚNIOR et al., 2004), Tocantins (LINHARES et al., 2006), Paraíba (BATISTA et al., 2007), Minas Gerais (CARVALHO et al., 2008), Rio Grande do Sul (SILVA et al., 2009), São Paulo (CADIOLI et al., 2012), Pernambuco (PIMENTEL et al., 2012), Alagoas (ANDRADE NETO et al., 2015), Santa Catarina (FÁVERO et al., 2016), Goiás (BASTOS et al., 2017) e Sergipe (VIEIRA et al., 2017).

É difícil definir as perdas econômicas causadas por *T. vivax* devido à sua ocorrência concomitante com outros agentes infecciosos (CLARKSON, 1976), mas todos os relatos acima citados descrevem importantes prejuízos à produção de carne, leite, reprodução e mortalidade. No Brasil, Seidl et al. (1999) calcularam que o custo estimado da enfermidade em rebanhos bovinos é da ordem de US\$ 14,65 por animal ou 4% do valor estimado do rebanho. Sem o tratamento, pode-se elevar para 17% do valor total do rebanho. Stevenson et al. (1995) afirmaram que no Pantanal, o gasto com tratamento pode chegar a US\$ 37,80 por animal. Em rebanhos leiteiros, a queda na produção pode chegar a 41,6% (COSTA et al., 2013).

Este hemoprotozoário tem ganhado importância no Brasil, em razão do aumento no número de surtos em áreas não endêmicas (CADIOLI et al., 2012; PIMENTEL et al., 2012; BASTOS et al., 2017). A enfermidade não é considerada um problema para o

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e por essa razão, não há controle oficial nem registros precisos sobre sua ocorrência. No futuro, devido à sua disseminação, *T. vivax* poderá trazer prejuízos maiores à pecuária, devido às mortes e redução dos índices produtivos e reprodutivos observados quando é introduzido em rebanhos de áreas não endêmicas. O presente estudo teve dois objetivos principais, sendo o primeiro a avaliação de diversas técnicas utilizadas para o diagnóstico de *T. vivax*, a fim de se verificar a melhor maneira de usá-las durante o curso da doença. O segundo foi verificar a variação do perfil de citocinas (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TNF α e IFN γ) associada à flutuação da parasitemia de *T. vivax* em bovinos experimentalmente infectados por este hemoparasita.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os tripanossomos encontrados em animais na América do Sul são *Trypanosoma vivax*, *T. evansi*, *T. equiperdum*, *T. cruzi* e *T. theileri* (HOARE, 1972; GARDINER, 1989). Baseado no modo de transmissão, o gênero *Trypanosoma* é dividido em duas seções: Salivaria e Stercoraria. Aqueles pertencentes à seção Salivaria são transmitidos por meio da inoculação de saliva dos insetos-vetores (inoculativa), ao passo que os pertencentes à seção Stercoraria são transmitidos por meio das fezes de seus vetores (contaminativa). A seção Salivaria pode ainda ser dividida em quatro subgêneros (*Dutonella*, *Pycnomonas*, *Nannomonas* e *Trypanozoon*) (HOARE, 1972; LOSOS, 1986).

Desta forma, *T. vivax* é um hemoprotozoário pertencente à família Trypanosomatidae, seção Salivaria, subgênero *Dutonella*. É tipicamente cinetoplástico, medindo entre 20 a 26 μm de comprimento com um único flagelo livre (GARDINER, 1989). Possui um cinetoplasto variando de pequeno a médio, elíptico ou em forma de meia lua e localizado na porção subterminal, sendo a sua posição um fator de identificação morfológica da espécie (MORAES, 2001; SILVA et al., 2002). Trata-se de um protozoário pleomórfico, apresentando a forma de tripomastigota na corrente sanguínea de seu hospedeiro vertebrado, onde se multiplica por fissão binária (UILENBERG; BOYT, 1998).

No continente africano, em áreas onde a *Glossina* sp. (tsé-tsé) está presente, o *T. vivax* é transmitido ciclicamente, ocorrendo o desenvolvimento do protozoário no trato digestório da mosca (DÁVILA; SILVA, 2000; DAGNACHEW et al., 2015). Em regiões onde não há a presença desta mosca, como as Américas, a transmissão é realizada mecanicamente por tabanídeos (mutucas), *Stomoxys calcitrans* (mosca dos estábulos)

(PAIVA et al., 2000; CADIOLI et al., 2012) e *Haematobia irritans* (mosca dos chifres) (SALAS et al., 2017), ou de forma iatrogênica por fômites (CADIOLI et al., 2012) e por via transplacentária (BATISTA et al., 2012).

Durante o curso das tripanossomíases verificam-se flutuações da parasitemia ou até intervalos aparasitêmicos (ALMEIDA et al., 2010; CADIOLI et al., 2015; FIDELIS JUNIOR et al., 2016), que podem estar relacionados à resposta imunológica do hospedeiro e à variação antigênica das glicoproteínas variantes de superfície (GVS) dos tripanossomos (NANTULYA, 1990; CROSS, 2003; STIJLEMANS et al., 2010). As GVS revestem a superfície de *Trypanosoma* sp. pertencentes à seção Salivaria e possuem papel na evasão do sistema imune do hospedeiro (STIJLEMANS et al., 2010; HORN, 2014). As GVS apresentam grande diversidade, sendo possível detectar até 28 GVS em um mesmo hospedeiro por dia durante os 30 primeiros dias de infecção (MUGNIER et al., 2015). Muito embora *T. vivax* apresente menor porcentagem destas proteínas em sua composição de membrana, quando comparado a outros tripanossomos, estas ainda representam aproximadamente 56% de sua superfície (GREIF et al., 2013), sendo responsáveis por estimular o hospedeiro a produzir IL-1 e TNF- α (VINCENDEAU; BOUTEILLE, 2006; STIJLEMANS et al., 2010), citocinas que podem levar à supressão da eritropoiese (ANOSA et al., 1992) e à produção de proteínas de fase aguda (PFA) (HEINRICH et al., 1990).

São reconhecidas três formas da infecção por *T. vivax* em bovinos, podendo ser aguda ou subaguda, marcadas por elevada parasitemia, febre, anemia, anorexia, epífora, apatia, ataxia, perda de peso progressiva, abortos, metrite e altas taxas de natimortalidade (DESQUESNES, 2004; BATISTA et al., 2008; CADIOLI et al., 2012). Posteriormente o animal pode evoluir para fase crônica, que é caracterizada por anemia e emaciação progressiva (UNSWORTH; BIRKETT, 1952; FIDELIS JUNIOR et al., 2016), associadas à baixa parasitemia ou intervalos aparasitêmicos (CADIOLI et al., 2015; FIDELIS JUNIOR et al., 2016). Animais aparasitêmicos submetidos ao estresse alimentar ou de transporte podem apresentar ressurgência de parasitas (DESQUESNES, 2004).

No que tange às alterações laboratoriais podem ser observados quadros de coagulação intravascular disseminada (CID), diminuição do volume globular, de hemácias, de níveis de fibrinogênio e de plaquetas (WELLDE et al., 1989; FIDELIS JUNIOR et al., 2016). A leucopenia observada é atribuída à redução na mielopoiese, podendo relacionar-se com a imunossupressão dos animais infectados com esse protozoário (JAIN, 1986; FIDELIS JUNIOR et al., 2016). Segundo Fidelis Junior et al. (2016), a diminuição do peso dos animais coincide com a presença de grande quantidade

de *T. vivax* circulantes, indicando que a perda de peso pode estar relacionada à espoliação causada pelo aumento do gasto energético, como em processos febris (STEPHEN, 1986), à diminuição na disponibilidade de energia para o hospedeiro, decorrente do consumo de nutrientes pelos tripanossomos (BOERO, 1974), ao alto consumo energético induzido pela resposta imunológica (MENEZES et al., 2004) ou ainda devido à liberação de citocinas como o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), que interferem na disponibilização de substratos energéticos nos animais infectados (LUCAS et al., 1993).

O diagnóstico de *T. vivax* pode ser feito através de métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares. Os métodos parasitológicos são os mais utilizados no Brasil (MADRUGA, 2004), dentre os quais destacam-se os esfregaços sanguíneos corados (NDAO et al., 2000; SILVA et al., 2002). Outras técnicas parasitológicas amplamente utilizadas são as descritas por Brener (1961) e Woo (1970). Entretanto, todas estas tendem a apresentar baixa sensibilidade em baixas parasitemias (MASAKE et al., 1994; REBESKI et al., 1999; CADIOLI et al., 2015). Dentre os testes sorológicos mais utilizados para o diagnóstico de tripanossomíases, destacam-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) (NANTULYA, 1990; VAN DEN BOSSCHE et al., 2001; SILVA et al., 2002) que são baseados na presença de anticorpos anti-*T. vivax* no soro do animal suspeito. Estas são técnicas de escolha para o *screening* de rebanhos afetados (SAMPAIO et al., 2015). Os métodos moleculares como o Reação em Cadeia da Polimerase convencional (PCR) (CLAUSEN et al., 1998; CORTEZ et al., 2009), PCR em tempo real (qPCR) (SILBERMAYR et al., 2013) e a amplificação circular isotérmica do DNA (LAMP) (KUBOKI et al., 2003; NIJIRU et al., 2011) são ótimos indicadores da presença do DNA de *T. vivax* no sangue dos animais, sendo entretanto métodos mais caros e que necessitem de estrutura adequada para sua realização.

Além do desenvolvimento de melhores técnicas de diagnóstico da infecção por *T. vivax*, são necessários mais estudos a fim de se compreender melhor a relação parasita-hospedeiro, determinando indicadores clínicos que permitam conhecer o desenvolvimento da infecção e avaliar sua gravidade, estabelecer o prognóstico e eventualmente, a fase da infecção na qual o hospedeiro se encontra, para que novas medidas de intervenção possam ser implementadas no combate a enfermidade, uma vez que os animais cronicamente infectados, muitas vezes são tomados como “sadios” e contribuem para a disseminação deste tripanossomo.

Citocinas são proteínas moduladoras da inflamação, participando tanto de sua fase aguda quanto crônica, através de uma complexa e às vezes aparentemente contraditória rede de interações. Uma melhor compreensão de como estas vias são reguladas pode auxiliar na identificação mais precisa de agentes causadores da inflamação e do tratamento de determinadas doenças (TURNER et al. 2014). Vários estudos sugerem que as respostas de citocinas podem influenciar a infecção causada por parasitas do gênero *Trypanosoma*, no entanto, o papel preciso destas permanece pouco claro e pode variar de acordo com a espécie animal e a amostra do parasita (ABRAHAMSOHN, 1998; TAYLOR; MERTENS, 1999; MUSAYA et al., 2015).

Segundo Musaya et al. (2015), quatro citocinas estão envolvidas nos quadros de anemia provocados por parasitas do gênero *Trypanosoma*, sendo estas o interferon gamma (IFN γ), duas interleucinas (IL-10 e IL-12) e o TNF α . Desta forma podemos verificar que tanto citocinas pró-inflamatórias, IFN γ , TNF α e IL-12, quanto anti-inflamatórias, IL-10 (TURNER et al. 2014; KATO et al., 2016), desempenham papel importante e similar nesta enfermidade.

As principais citocinas pró-inflamatórias são IL-1, IL-6, TNF α e IFN γ (TURNER et al. 2014; KATO et al., 2016). A IL-1 β pertence à família da IL-1, a qual possui outros 10 membros: IL-1 α , IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ (com atividade agonista), IL-1 receptor antagonista (IL-1Ra), IL-36Ra, IL-38 (com atividade antagonista) e IL-37 (anti-inflamatória) (GARLANDA et al., 2013). Os membros desta família podem apresentar um papel pró-inflamatório ou anti-inflamatório (GARLANDA et al., 2013; TURNER et al., 2014). IL-1 β é sintetizada por diferentes tipos celulares, tais como monócitos, macrófagos, neutrófilos e hepatócitos (AREND et al., 2008). Camundongos experimentalmente infectados por *T. b. brucei* apresentaram um aumento na concentração de IL-1 β , mas não diferiram significativamente do grupo controle (STERNBERG et al., 2005). O preciso papel da IL-1 β em infecções causadas tanto por tripanossomos humanos quanto por tripanossomos animais ainda não foi elucidado (KATO et al., 2016).

O TNF α é uma citocina pró-inflamatória, pertencente à superfamília TNF, a qual possui outros seis membros: TNF β , linfotoxina α (LT α), LT $\alpha\beta$, fator ativador de células B (BAFF), ligante indutor de proliferação (APRIL) e Osteoprotegerina (OPG) (ABBAS; LICHTMAN, 2005; TURNER et al., 2014). O TNF α está envolvido na imunidade inata contra patógenos intracelulares (KATO et al., 2016), sendo produzido por diversos tipos celulares, tais como: macrófagos, linfócitos T, mastócitos, granulócitos, células NK, fibroblastos, neurônios, queratinócitos e células musculares (TRACEY et al., 2008). As GVS liberadas por tripanossomos são o principal fator indutor da produção/liberação de

TNF α (MAGEZ et al., 1999). Quando encontrado em altas concentrações o TNF α está relacionado com a caquexia tipicamente observada em infecções crônicas por *T. vivax* (VINCENDEAU; BOUTEILLE, 2006), com a anemia em infecções por *T. brucei* (NAESSENS et al., 2005) e imunossupressão (DARJI et al., 1996). Entretanto, Naessens et al. (2004) relacionaram a deficiência desta citocina com a susceptibilidade de ratos à infecção por *T. congolense*. Deste modo, a produção de TNF α é favorável para o hospedeiro devido sua atividade tripanolítica, mesmo que esta desencadeie caquexia (NAESSENS et al., 2004).

A IL-6 pertence à família das IL-6, a qual é composta também pelas IL-11, IL-31, fator neurotrófico ciliar (CNTF), cardiotrofina 1 (CT-1), fator inibidor de leucemia (LIF), osteopontina (OPN) e oncostamina M (OSM) (TURNER et al., 2014). Esta citocina é produzida principalmente por macrófagos, células T e células endoteliais (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A IL-6 participa de diversas atividades biológicas, tais como respostas imunes, hematopoiese e induz a produção de proteína de fase aguda pelo fígado (KISHIMOTO, 2010). A IL-6 age como cofator da IL-1 na síntese de IgM e com a IL-5 na síntese de IgA (TIZARD, 2002). Uma característica interessante da IL-6 é a sua possível atuação multifuncional podendo agir tanto como uma citocina pró-inflamatória quanto anti-inflamatória, com diversas implicações na patofisiologia de diversas enfermidades (KATO et al. 2016). Em ratos experimentalmente infectados por *T. evansi* foi observado aumento nas concentrações de IL-1, IL-6 e TNF α (PAIM, 2011).

O IFN γ é uma citocina pró-inflamatória, secretada principalmente por células T e NK (ABBAS; LICHTMAN, 2005; KATO et al. 2016), pertencente a família IFN tipo II (TURNER et al., 2014). O IFN γ parece estar envolvida no controle da parasitemia, desta forma contribuindo para a sobrevivência de camundongos experimentalmente infectados por *T. b. brucei* (NAMANGALA et al., 2001), *T. b. rhodesiense* (HERTZ et al., 1998) e *T. cruzi* (RODRIGUES et al., 2012). No entanto o IFN γ foi encontrado em altas concentrações no sistema nervoso central (SNC) de camundongos experimentalmente infectados por *T. b. brucei*, sendo que estes apresentaram de moderadas a severas alterações histopatológicas no SNC (STERNBERG et al., 2005). Em pacientes que apresentavam tripanossomíase africana humana, os níveis plasmáticos desta citocina apresentaram-se elevados durante toda a infecção (MACLEAN et al., 2001).

A IL-12 é uma citocina pertencente à família IL-12, a qual possui outros três membros, a IL-23, IL-27 e IL-35 (VIGNALI; KUCHROO, 2012). Esta citocina é produzida por macrófagos e células dendríticas (O'SHEA; PAUL, 2002; ABBAS; LICHTMAN, 2005), atuando na diferenciação de células T em Th1 e estimulando células NK e T a produzir

IFN γ e aumentar suas atividades citotóxicas (ABBA; LICHTMAN, 2005; VIGNALI; KUCHROO, 2012), as quais apresentam resposta mais efetiva contra protozoários do gênero *Trypanosoma* e *Leishmania* (MOSMAN; SAD, 1996). Camundongos experimentalmente infectados por diferentes isolados de *T. brucei* apresentaram valores elevados de IL-12 durante todo o período experimental, sendo que os diferentes isolados estudados apresentaram diferença na concentração desta citocina (MORRISON et al., 2010).

A IL-10 é uma citocina regulatória, que é secretada para o controle de quadros de inflamação excessiva (KATO et al. 2016) Esta citocina pertence à família IL-10, a qual é composta por outras seis citocinas: IL-9, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 e IL-26 (SABAT, 2010), sendo produzida por diversos tipos celulares, tais como monócitos, macrófagos, células T, B, NK e dendríticas, mastócitos, neutrófilos e eosinófilos (SABAT et al. 2010). Aumento nas concentrações de IL-10 faz com que ocorra a inibição da síntese de citocinas Th 1 (IFN γ , TNF β , IL-1), da ação de células NK e, nos macrófagos ativados, inibe a produção de IL-1, IL-6, TNF α e espécies reativas de oxigênio (TIZARD, 2002), atuando também na inibição da expressão de IL-12, de coestimuladores e de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II (ABBAS; LICHTMAN, 2005). Em tripanossomíases africanas humanas a IL-10 apresenta sua concentração elevada tanto no plasma quanto no líquido, retornando a valores “normais” após o tratamento (MACLEAN et al., 2001). Sternberg et al. (2005) sugerem que a IL-10 esta relacionada à proteção do SNC de processos inflamatórios patológicos, sendo um fator importante para a sobrevivência de camundongos infectados por *T. b. brucei* (NAMANGALA et al. 2001).

A IL-4 é uma citocina relacionada à imunidade adaptativa pertencente à família dos ligantes comuns do receptor de cadeia γ ao qual também pertencem a IL-2, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21 (TURNER et al., 2014). Esta citocina é produzida principalmente por células T CD4⁺ (Th2), mastócitos e basófilos (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A liberação de IL-4, uma interleucina do padrão de resposta Th2, está relacionada com a tripanotolerância em bovino N'Dama infectados por *T. congolense*, os quais apresentam altos níveis de IL-4 e baixos de IL-6 (MERTENS et al., 1999). A IL-4 potencializa células T citotóxicas e faz com que as células T auxiliares cresçam na ausência de IL-2, aumenta a expressão de moléculas MHC II e ainda reduz a produção de IL-1, IL-6 e TNF α (TIZARD, 2002). A IL-4 exerce uma regulação positiva na expressão de IgM, IgG1 e IgE (HIRANO et al., 1997). Em camundongos experimentalmente infectados por *T. b. brucei* a IL-4 foi relacionada como controladora dos níveis de parasitemia, através do seu efeito na síntese de

imunoglobulinas, mas ao mesmo tempo apresentou um efeito tóxico sobre os animais (BAKHJET et al., 1996).

A IL-2, assim como a IL-4, pertence à família dos ligantes comuns do receptor de cadeia γ (TURNER et al., 2014). Esta citocina está relacionada à proliferação, diferenciação e ativação de células T, B e NK (ABBAS; LICHTMAN, 2005; LIAO et al. 2011), sendo produzida por células T (LIAO et al. 2011). Redução de IL-2 foi verificada em camundongos experimentalmente infectado por *T. brucei* (SILEGHEM et al., 1986) e *T. congolense* (MITCHELL et al., 1986).

Nota-se que a enfermidade causada por *T. vivax*, espalha-se pelo Brasil (CADIOLI et al., 2012; PIMENTEL et al., 2012; BASTOS et al., 2017; VIEIRA et al., 2017) e tem potencial para causar prejuízos econômicos cada vez maiores à pecuária, sendo seu diagnóstico muitas vezes desafiador, uma vez que a enfermidade ainda apresenta muitos aspectos clínicos, imunológicos e laboratoriais não completamente elucidados. Além disso, são pouquíssimas e limitadas as informações relacionadas às respostas de citocinas durante as infecções por *T. vivax* disponíveis na literatura científica, fato que justifica a realização do presente estudo.

3. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. Citocinas. In: _____. **Imunologia celular e molecular**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. cap. 11, p. 251-282.

ABRAHAMSOHN, I. A. Cytokines in innate and acquired immunity to *Trypanosoma cruzi* infection. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n. 1, p. 117-21, 1998.

ALMEIDA, K. S.; FREITAS, F. L. C.; TEBALDI, J. H.; ALESSI, A. C.; MACHADO R. Z.; NASCIMENTO, A. A. Alterações clínicas, histopatológicas e enzimáticas em ovinos infectados experimentalmente por *Trypanosoma vivax*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 669-676, 2010.

ANDRADE NETO, A. Q. A.; AFONÇO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.; SOUTO, R. J. C.; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z. Surtos de tripanossomíase em bovinos leiteiros no agreste dos estados de Pernambuco e Alagoas. **Biológico**, supl 2, v. 1, n. 77, p. 143, 2015.

ANOSA, V. O.; LOGAN-HENFREY, L. L.; SHAW, M. K. A light and electron microscopic study of changes in blood and bone marrow in acute hemorrhagic *Trypanosoma vivax* infection in calves. **Veterinary Pathology**, v. 29, n. 1, p. 33-45, 1992.

AREND, W. P.; PALMER, G.; GABAY, C. IL-1, IL-18 and IL-33 families of cytokines. **Immunological Reviews**, v. 223, p. 20-38, 2008.

BAKHJET, M.; JANSSON, L.; BÜSCHER, P.; HOLMDAHL, R.; KRISTENSSON, K.; OLSSON, T. Control of parasitemia and survival during *Trypanosoma brucei brucei* infection is related to strain-dependent ability to produce IL-4. **Journal of Immunology**, v. 157, n. 8, p. 3518-3526, 1996.

BASTOS, T. S. A.; FARIA, A. M.; MADRID, D. M. C.; BESSA, L. C.; LINHARES, G. F. C.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; CRUZ, B. C.; CRUVINEL, L. B.; NICARETTA, J. E.; MACHADO, R. Z.; COSTA, A. J.; LOPES, W. D. Z. First outbreak and subsequent cases of *Trypanosoma vivax* in the state of Goiás, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia veterinária**, Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612017019>.

BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; CARVALHO, J. R. G.; ROSADO NETO, A. M.; PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 63-69, 2008.

BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M. G.; MADRUGA, C. R.; SIMÕES, S. D. V.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 2, p. 174-181, 2007.

BATISTA, J. S.; RODRIGUES, C. M.; OLINDA, R. G.; SILVA, T. M.; VALE, R. G.; CÂMARA, A. C.; REBOUÇAS, R. E. S.; BEZERRA, F. S. B.; GARCIA, H. A. TEIXEIRA, M. M. G. Highly debilitating natural *Trypanosoma vivax* infections in Brazilian calves: epidemiology, pathology, and probable transplacental transmission. **Parasitology Research**, v. 110, n. 1, p. 73-80, 2012.

BOERO, J. J. **Parasitosis animales**: generalidades parasitológicas, micosis, protozoosis, helmintiasis, entomozoosis. 3. ed. Buenos Aires: Eudeba, 1974. 264 p.

BORASCHI, D.; LUCCHESI, D.; HAINZL, S.; LEITNER, M.; MAIER, E.; MANGELBERGER, D.; OOSTINGH, G. J.; PFALLER, T.; PIXNER, C.; POSSELT, G.; ITALIANI, P.; NOLD, M. F.; NOLD-PETRY, C. A.; BUFLERS, P.; DINARELLO, C. A. IL-37: a new anti-inflammatory cytokine of the IL-1 family. **European Cytokine Network**, v. 22, n. 3, p. 127-147, 2011.

BRENER, Z. **Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas**. 1961. 79f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Odontologia e Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1961.

CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 118-124, 2012.

CADIOLI, F. A.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; SANTOS, G. N.; ANDRÉ, M. R.; CASTILHO NETO, K. J. G. A.; MACHADO, R. Z. Detection of *Trypanosoma vivax* using PCR and LAMP during aparasitemic periods. **Veterinary Parasitology**, v. 214, n. 1, p. 174-177, 2015.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.

CLARKSON, M. J. Trypanosomiasis of domesticated animals of South America. Seminar on Trypanosomiasis – Species of the subgenus and their potential usefulness. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 70, n. 2, p. 125-126, 1976.

CLAUSEN, P. H.; WIEMANN, A.; PATZELT, R.; KAKAIRE, D.; POETZSCH, C.; PEREGRINE, A.; MEHLITZ, D. Use of a PCR assay for the specific and sensitive

detection of *Trypanosoma* spp. in naturally infected dairy cattle in peri-urban Kampala, Uganda. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v. 849, p. 21-31, 1998.

CORTEZ, A. P.; RODRIGUES, A. C.; GARCIA, A. H.; NEVES, L.; BATISTA, J. S.; BENGALY, Z.; PAIVA, F.; TEIXEIRA, M. M. G. Cathepsin L-like genes of *Trypanosoma vivax* from Africa and south America – characterization, relationships and diagnostic implications. **Molecular and Cellular Probes**, v. 23, n. 1, p. 44-51, 2009.

COSTA, A. C.; LOPES, F. C.; CASTRO, A. J.; VALE, D. L.; SILVA, T. M. F.; FREITAS, C. I. A.; BATISTA, J. S. *Trypanosoma vivax*: infecção natural afetando a produção de vacas leiteiras. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2013, Belém. **Anais Eletrônicos**. Belém: UFPA, 2013. 1 CD-ROM.

CROSS, G. A. M. Antigenic variation in African Tripanosomes and malaria. In: MARR, J. J.; NILSEN, T. W.; KOMUNIECKY, R. W. **Molecular medical parasitology**. San Diego: Academic Press, p. 82-110, 2003.

DAGNACHEW, S.; TEREFE, G.; ABEBE, G.; BARRY, D.; McCULLOCH, R.; GODDEERIS, B. In vivo experimental drug resistance study in *Trypanosoma vivax* isolates from tsetse infested and non-tsetse infested areas of Northwest Ethiopia. **Acta Tropica**, v. 146, p. 95-100, 2015.

DARJI, A.; BESCHIN, A.; SILEGHEM, M.; HEREMANS, H.; BRYNS, L.; BAETSELIER, P. In vitro simulation of immunosuppression caused by *Trypanosoma brucei*: Active involvement of gamma interferon and tumor necrosis factor in the pathway of suppression. **Infection and Immunity**, v. 64, n. 6, p. 1937-43, 1996.

DÁVILA, A. M. R.; SILVA, R. A. M. S. Animal trypanosomiasis in South America. current status, partnership, and information technology. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v. 916, p. 199-212, 2000.

DESQUESNES, M. **Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America**. Paris: OIE (World Organisation for Animal Health), 2004.

FÁVERO, J. F.; DA SILVA, A. S.; BIAZUS, A. H.; VOLPATO, A. *Trypanosoma vivax* infection in goat in west of Santa Catarina state, Brazil. **Comparative Clinical Pathology**, v. 25, n. 2, p. 497-499, 2016.

FEITOSA JÚNIOR, A. B.; GUERRA, R. M. S. N. C.; SANTOS, H. P.; ABREU-SILVA, A. L. Registro e morfometria de *Trypanosoma vivax* em esfregaço sanguíneo de bovino no município de Itapecuru-Mirim, Maranhão. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 1, p. 232, 2004. Suplemento 1.

FIDELIS JUNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R.; MARQUES, L. C.; CADIOLI, F. A. Evaluation of clinical signs, parasitemia, hematologic and biochemical changes in cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 1, 2016.

GARDINER, P. R.; ASSOKU, R. K. G.; WHITELAW, D. D.; MURRAY, M. Haemorrhagic lesions resulting from *Trypanosoma vivax* infection in Ayrshire cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 31, n. 3-4, p. 187-197, 1989.

GARLANDA, C.; DINARELLO, C. A.; MANTOVANI, A. The Interleukin-1 family: Back to the future. **Immunity**, v. 39, n. 6, p. 1003–1018, 2013.

GIORDANI, F.; MORRISON, L. J.; ROWAN, T. G.; KONING, H. P.; BARRETT, M. P. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. **Parasitology**, v. 143, p. 1862–89, 2016.

GREIF, G.; LEON, M. P.; LAMOLLE, G.; RODRIGUEZ, M.; PIÑEYRO, D.; TAVARES-MARQUES, L. M.; REYNA-BELLO, A.; ROBELLO, C.; ALVAREZ-VALIN, F. Transcriptome analysis of the bloodstream stage from the parasite *Trypanosoma vivax*. **BMC Genomics**, v. 14, n. 149, p 1-17, 2013.

HEINRICH, P. C.; CASTELL, J. V.; ANDUS, T. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochemical Journal**, v. 265, n. 3, p. 621-636, 1990.

HERTZ, C. J.; FILUTOWICZ, H.; MANSFIELD, J. M. Resistance to the African trypanosomes is IFN-gamma dependent. **Journal of Immunology**, v. 161, n. 12, p. 6775-6783, 1998.

HIRANO, A.; BROWN, W. C.; ESTES, D. M. Cloning, expression and biological function of the bovine CD40 homologue: role in B-lymphocyte growth and differentiation in cattle. **Immunology**, v. 90, p. 294-300, 1997.

HOARE, C. A. The Salivaria: Subgenus *Duttonella* Chalmers, 1918. In the: _____. **The trypanosomes of mammals: a zoological monograph**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1972. Cap. 11, p. 401-429.

HORN, D. Antigenic variation in African trypanosomes. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 195, n. 2, p. 123-129, 2014.

JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea and Febinger, 1986. 1221 p.

JONES, T. W.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma vivax*—out of Africa. **TRENDS in Parasitology**, v. 17, n. 2, p. 99-101, 2001.

KISHIMOTO, T. IL-6: from its discovery to clinical applications. **International immunology**, v. 22, n. 5, p. 347-352, 2010.

KATO, C. D.; MATOVU, E.; MUGASA, C. M.; NANTEZA, A.; ALIBU, V. P. The role of cytokines in the pathogenesis and staging of *Trypanosoma brucei rhodesiense* sleeping sickness. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v. 12, n. 4, p. 1-10, 2016.

KUBOKI, N.; INOUE, N.; SAKURAI, T.; DI CELLO, F.; GRAB, D. J.; SUZUKI, H.; SUGIMOTO, C.; IGARASHI, I. Loop-Mediated isothermal amplification for detection of African trypanosomes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5517-5524, 2003.

LIAO, W.; LIN, J.; WANG, L.; LI, P.; LEONARD, W. J. Cytokine receptor modulation by interleukin-2 broadly regulates T helper cell lineage differentiation. **Nature Immunology**, v.12, n. 6, p. 551-559, 2011.

LINHARES, G. F. C.; DIAS FILHO, F. D.; FERNANDES, P. R.; DUARTE, S. C. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 455-460, 2006.

LOSOS, G. J. **Infectious tropical diseases of domestic animals**. Harlow Essex: Longman Scientific and Technical, 1986. 938 p.

LUCAS, R.; MAGEZ, S.; BAJYANA SONGA, E.; DARJI, A.; HAMERS, R.; DE BAETSELIER, P. A role for TNF during African Tripanosomiasis: involvement in parasite control, immuno-suppression and pathology. **Research in Immunology**, v. 144, n. 5, p. 370-376, 1993.

MACLEAN, L.; ODIIT, M.; STERNBERG, J. M. Nitric oxide and cytokine synthesis in human African trypanosomiasis. **The Journal of Infectious Disease**, v. 184, n. 8, p. 1086-1090, 2001.

MADRUGA, C. R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanossoma (Duttonella) vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 46-47, 2004.

MAGEZ, S.; RADWANSKA, M.; BESCHIN, A.; SEKIKAWA, K.; BAETSELIER, P. Tumor Necrosis Factor alpha is a key mediator in the regulation of experimental *Trypanosoma brucei* infections. **Infection and Immunity**, v. 67, n. 6, 1999.

MASAKE, R. A.; NANTULYA, V. M.; PELLÉ, R.; MAKAU, J. M.; GATHUO, H.; OLE-MOIYOI, K. A specie specific antigen of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* detectable in the course of infection is encoded by a differentially tandemly-reiterated gene. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 64, n. 2, p. 207-218, 1994.

MENEZES, V. T.; QUEIROZ, A. O.; GOMES, M. A. M.; MARQUES, M. A. P.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma evansi* in inbred and Swiss-Webster mice: distinct aspects of pathogenesis. **Parasitology Research**, v. 94, n. 3, p. 193-200, 2004.

MERTENS, B.; TAYLOR, K.; MURIUKI, C.; ROCCHI, M. Cytokine mRNA profiles in trypanotolerant and trypanosusceptible cattle infected with the protozoan parasite *Trypanosoma congolense*: Protective role for interleukin-4?. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 19, n. 1, p. 59-65, 1999.

MITCHELL, L. A.; PEARSON, T. W.; GAULDIE, J. Interleukin-1 and interleukin-2 production in resistant and susceptible inbred mice infected with *Trypanosoma congolense*. **Immunology**, v. 57, n. 2, p. 291-296, 1986.

MORAES, M. A. V. ***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.

MORRISON, L. J.; MCLELLAN, S.; SWEENEY, L.; CHAN, C. N.; MACLEOD, A.; TAIT, A.; TURNER, C. M. Role for parasite genetic diversity in differential host responses to *Trypanosoma brucei* infection. **Infection and Immunity**, v. 78, n. 3, p. 1096–1108, 2010.

MOSMANN, T. R.; SAD, S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. **Immunology Today**, v. 17, n. 3, p. 138-146, 1996.

MUGNIER, M. R.; CROSS, G. A. M.; PAPAVALIIOU, F. N. The in vivo dynamics of antigenic variation in *Trypanosoma brucei*. **Science**, v. 347, n. 6229, p. 1470-1473, 2015.

MUSAYA, J.; MATOVU, E.; NYIRENDA, M.; CHISI, J. Role of cytokines in *Trypanosoma brucei*-induced anaemia: A review of the literature. **Malawi Medical Journal**, v. 27, n. 2, p. 45-50, 2015.

NAESSENS, J.; KITANI, H.; MOMOTANI, E.; SEKIKAWA, K.; NTHALE, J. M.; IRAQI, F. Susceptibility of TNF-alpha-deficient mice to *Trypanosoma congolense* is not due to a defective antibody response. **Acta Tropica**, v. 92, n. 3, p.193-203, 2004.

NAESSENS, J.; KITANI, H.; NAKAMURA, Y.; YAGI, Y.; SEKIKAWA, K.; IRAQI, F. TNF α mediates the development of anaemia in a murine *Trypanosoma brucei rhodesiense* infection, but not the anaemia associated with a murine *Trypanosoma congolense* infection. **Clinical and experimental Immunology**, v. 139, p. 405-10, 2005.

NAMANGALA, B.; NOËL, W.; BAETSELIER, P.; BRYNS, L.; BESCHIN, A. Relative contribution of interferon-gamma and interleukin-10 to resistance to murine African trypanosomiasis. **The Journal of infectious disease**, v. 183, n. 12, p. 1794-1800, 2001.

NANTULYA, V. M. Trypanosomiasis in domestic' altimals: the problems of diagnosis. **Revue Scientifique et Technique - Office International des Epizooties**, Paris, v. 9, n. 2, p. 357-367, 1990.

NDAO, M.; KELLY, N.; NORMANDIN, D.; MACLEAN, J. D.; WHITEMAN, A.; KOKOSKIN, E.; AREVALO, I.; WARD, B. J. *Trypanosoma cruzi* infection of squirrel monkeys: comparison of blood smear examination, commercial enzyme-linked immunosorbent assay, and polymerase chain reaction analysis as screening tests for evaluation of monkeys-related injuries. **Comparative Medicine**, v. 50, n. 6, p. 658-665, 2000.

NIJIRU, Z. K.; OUMA, J. O.; BATETA, R.; NJERU, S. E.; NDUNGU, K.; GITONGA, P. K.; GUYA, S.; TRAUB, R. Loop-mediated isothermal amplification test for *Trypanosoma vivax* based on satellite repeat DNA. **Veterinary Parasitology**, v. 180, n. 3-4, p. 358-62, 2011.

OLIVEIRA, J. B.; HERNANDEZ-GAMBOA, J.; JIMÉNEZ-ALFARO, C.; ZELEDÓN, R.; BLANDÓN, M.; URBINA, A. First report of *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle from Costa Rica. **Veterinary Parasitology**, v. 163, n. 1-2, p. 136-39, 2009.

O'SHEA, J. J.; PAUL, W. E. Regulation of T(H)1 differentiation—controlling the controllers. **Nature Immunology**, v. 3, p. 506–508, 2012.

PAIM, F. C. **Citocinas pró-inflamatórias em ratos experimentalmente infectados por *Trypanosoma evansi***. 2011, 50 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKASATO, L.; BRUM, K. B.; BERNADO, K. C.; MADRUGA, C. R.; SCHENK, M. A. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil: II – Inoculação Experimental. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 143-148, 2000.

PEREIRA, L. J.; ABREU, A. C. V. V. Ocorrência de tripanosomas em bovinos e ovinos na região amazônica. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 13, n. 3, p. 17-21, 1978.

PIMENTEL, de S. P.; RAMOS, C. A. do N.; RAMOS, R. A. do N.; ARAÚJO, F. R. de; BORBA, M. L.; FAUSTINO, M. A. da G.; ALVES, L. C. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 185, n. 2-4, p. 286-289, 2012.

REBESKI, D. E.; WINGER, E. M.; ROGOVIC, B.; ROBINSON, M. M.; CROWTHER, J. R.; DWINGER, R. H. Improved methods for the diagnosis of african trypanosomosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 249-253, 1999.

RODRIGUES, A. A.; SAOSA, J. S.; SILVA, G. K.; MARTINS, F. A.; SILVA, A. A.; SOUZA NETO, C. P.; HORTA, C. V.; ZAMBONI, D. S.; SILVA, J. S.; FERRO, E. A.; SILVA, C. V. IFN- γ plays a unique role in protection against low virulent *Trypanosoma cruzi* strain. **PLoS Neglected tropical Disease**, v. 6, n. 4, e1598, 2012.

SABAT, R. IL-10 family of cytokines. **Cytokines & Growth Factor Reviews**, v. 21, n. 5, p. 315-324, 2010.

SALAS, R. Z.; ZULUAGA, E. A. C.; VÉLEZ, J. R.; CHÁVEZ, O. T.; GARCÍA, V. H. P.; OSORIO, L. A. R.; ROSALES, R. B.; ECHEVERRY, D. P. Tripanosomiasis bovina en ganadería lechera de tropic alto: primer informe de Haematobia irritans como principal vector de *T. vivax* y *T. evansi* en Colombia. **Revista de Medicina Veterinaria**, v. 33, p. 21-34, 2017.

SAMPAIO, P. H.; JUNIOR, O. L. F.; MARQUES, L. C.; MACHADO, R. Z.; BARNABÉ, P. A.; ANDRÉ, M. R.; BALBUENA, T. S.; CADIOLI, F. A. Acute-phase protein behavior in dairy cattle herd naturally infected with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, v. 211, n. 3, p. 141-145, 2015.

SEIDL, A. F.; DÁVILA, A. M. R.; SILVA, R. A. M. S. Estimated financial impact of *Trypanosoma vivax* on the Brazilian pantanal and Bolivian lowlands. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 64, n. 2, p. 269-272, 1999.

SERRA-FREIRE, N. M. Oiapoque – outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 4, p. 30-31, 1981.

SILBERMAYR, K.; LI, F.; SOUDRÉ, A.; MÜLLER, S.; SÖLKNER, J. A novel qPCR assay for the detection of African animal trypanosomiasis in trypanotolerant and trypanosusceptible cattle breeds. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 8, p. 1-9, 2013.

SILEGHEM M, HAMERS R, DE BAETSELIER P. Active suppression of interleukin 2 secretion in mice infected with *Trypanosoma brucei* AnTat 1.1.E. **Parasite immunology**, v. 8, n. 6, p. 641-649, 1986.

SILVA, A. S.; COSTA, M. M.; POLENZ, M. F.; POLENZ, C. H.; TEIXEIRA, M. M. G.; LOPES, S. T. A.; MONTEIRO, S. G. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2550-2554, 2009.

SILVA, R. A. M. S.; SCHNEIDER, R. C.; FREITAS, J.; MESQUITA, D.; MESQUITA, T.; RAMIREZ, L.; DAVILA, A. M. R.; PEREIRA, M. E. B. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 5, p. 561-2, 1996.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax***: Biologia, diagnóstico e controle. Corumbá: EMBRAPA, 2002. 137 p.

STEPHEN, L. E. **Trypanosomiasis**: a veterinary perspective. New York: Pergamon Press, 1986. 533 p.

STERNBERG, J. M.; RODGERS, J.; BRADLEY, B.; MACLEAN, L.; MURRAY, M.; KENNEDY, P. G. E. Meningoencephalitic African trypanosomiasis: Brain IL-10 and IL-6

are associated with protection from neuro-inflammatory pathology. **Journal of Neuroimmunology**, v. 167, p. 81–89, 2005.

STEVENSON, P.; SONES, K. R.; GICHERU M. M.; MWANGI, E. K. Comparison of isometamidium chloride and homidium bromide as prophylactic drugs for trypanosomiasis in cattle at Nguruman, Kenya. **Acta Tropica**, v. 59, n. 2, p. 77-84, 1995.

STIJLEMANS, B.; VANKRUNKELSVEN, A.; CALJON, G.; BOCKSTAL, V.; GUILLIAMS, M.; BOSSCHAERTS, T.; BESCHIN, A.; RAES, G.; MAGEZ, S.; BAETSELIER, P. de. The central role of macrophages in trypanosomiasis-associated anemia: rationale for therapeutical approaches. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets**, v. 10, n. 1, p. 71-82, 2010.

TAYLOR, K. A.; MERTENS, B. Immune response of cattle infected with African Trypanosomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 239-44, 1999.

TRACEY, D.; KLARESKOG, L.; SASSO, E. H.; SALFELD, J. G.; TAK, P. P. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 117, p. 244–279, 2008.

TIZARD, I. R. Imunidade aos parasitas. In: _____. **Imunologia Veterinária: uma introdução**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. cap. 24, p. 312-329.

TURNER, M. D.; NEDJAI, B.; HURST, T.; PENNINGTON, D. J. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1843, p. 2563–2582, 2014.

UILENBERG, G.; BOYT, W. P. **A Field guide for the diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomosis**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1998. 158 p

UNSWORTH, K.; BIRKETT, J. D. The use of antrycide prosalt in protecting cattle against trypanosomiasis when in transit through tse-tse areas. **Veterinary Record**, v. 64, p. 351-353, 1952.

VAN DEN BOSSCHE, P.; SHUMBA, W.; NJAGU, C.; SHERENI, W. The distribution of bovine Trypanosomosis in Zimbabwe and an evaluation of the value of an anti-trypanosomal antibody detection ELISA as a tool for monitoring the effectiveness of Tsetse control operations. **Tropical Animal Health and Production**, v. 33, n. 5, p. 391-405, 2001.

VIEIRA, O. L. E.; MACEDO, L. O.; SANTOS, M. A. B.; SILVA, J. A. B. A.; MENDONÇA, C. L.; FAUSTINO, M. A. G.; RAMOS, C. A. N.; ALVES, L. C.; RAMOS, R. A. N.; CARVALHO, G. A. Detection and molecular characterization of *Trypanosoma (Duttonella) vivax* in dairy cattle in the state of Sergipe, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 4, p. 516-520, 2017.

VIGNALI, D. A.; KUCHROO, V. K. IL-12 family cytokines: immunological playmakers. **Nature immunology**, v. 13, n. 8, p. 722-728, 2012.

VINCENDEAU, P.; BOUTEILLE, B. Immunology and immunopathology of African trypanosomiasis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, n. 4, p. 645-665, 2006.

WELLDE, B. T.; CHUMO, D. A.; ONYANGO, F. K.; REARDON, M. J.; ROBERTS, L. M.; NJOGU, A. R.; OPIYO, E. A. *Trypanosoma vivax*: disseminated intravascular coagulation in cattle. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 83, p. 177-183, 1989. Supplement 1.

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African Trypanosomiasis. **Acta Tropica**, v. 27, n. 4, p. 384-386, 1970.