

UNIVERSIDADE DE UBERABA
GIOVANNA RODRIGUES GOULART

SEGURANÇA CLÍNICA E PERFIL IMUNOGÊNICO DE UMA PROTEÍNA
QUIMÉRICA DE *Trypanosoma vivax* UTILIZADA EM ENSAIO VACINAL DE BOVINOS

UBERABA, MG

2025

GIOVANNA RODRIGUES GOULART

SEGURANÇA CLÍNICA E PERFIL IMUNOGÊNICO DE UMA PROTEÍNA
QUIMÉRICA DE *Trypanosoma vivax* UTILIZADA EM ENSAIO VACINAL DE BOVINOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar.

Coorientadora: Prof^ª Dr^ª Joely F. F. Bittar.

UBERABA, MG

2025

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

- G729s Goulart, Giovanna Rodrigues.
Segurança clínica e perfil imunogênico de uma proteína quimérica de *Trypanosoma vivax* utilizada em ensaio vacinal de bovinos. / Giovanna Rodrigues Goulart. – Uberaba (MG), 2025.
73 f. : il., color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos.
Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar.
Coorientadora: Profa. Dra. Joely F. F. Bittar.
1. Bovino – Doenças. 2. Bovino – Infecções. 3. Vacinas. 4. Imunologia veterinária. I. Bittar, Eustáquio Resende. II. Bittar, Joely F. F. III. Universidade de Uberaba. Programa de Pós -Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos. IV. Título.
- CDD 636.20896

Tatiane da Silva Viana – Bibliotecária – CRB-6/3171

GIOVANNA RODRIGUES GOULART

SEGURANÇA CLÍNICA E PERFIL IMUNOGÊNICO DE UMA PROTEÍNA QUIMÉRICA DE
Trypanosoma vivax UTILIZADA EM ENSAIO VACINAL DE BOVINOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos

Aprovada em: 14/11/2025

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Ian Martin
Universidade de Uberaba

gov.br

Documento assinado digitalmente
MARCIO SOBREIRA SILVA ARAUJO
Data: 18/11/2025 08:12:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Márcio Sobreira Silva Araújo
Instituto René Rachou-Fundação Oswaldo Cruz-
FIOCRUZ/MG

AGRADECIMENTOS

A conclusão do mestrado é mais do que alcançar uma meta acadêmica; é também o resultado de um percurso desafiador, repleto de conhecimentos adquiridos, descobertas e superações. Olhar para trás e reconhecer as pessoas que estiveram comigo nesse trajeto é uma parte essencial deste momento.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar e à minha coorientadora, Prof^ª Dr^ª Joely Ferreira Figueiredo Bittar, pela paciência, pelos conselhos precisos, pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos e, especialmente, por acreditarem em mim. Sua orientação transcendeu a trajetória acadêmica, estando presente também no meu crescimento pessoal.

Gostaria de agradecer a todos que colaboraram para a realização deste projeto com apoio intelectual e prático. Primeiramente, à minha instituição de formação, a Uniube, pela qual tenho profunda admiração e respeito. Agradeço também ao Prof. Dr. Ian Martin, à Dr^ª Priscilla Elias e a todos os alunos que contribuíram para o desenvolvimento do experimento. À equipe do laboratório HVU. À equipe de pesquisadores da Universidade Federal de Viçosa e da Fiocruz, bem como à equipe do Campo Experimental Getúlio Vargas (EPAMIG) em Uberaba – MG, que disponibilizou os animais, o espaço e o suporte necessário para a execução do trabalho.

À minha família, meu alicerce, agradeço pelo amor, incentivo e compreensão incondicional – especialmente aos meus pais, Fabiano e Geisa –, pelo cuidado e amor dedicados a mim e, de modo especial, ao meu filho, João Marcelo, possibilitando a conclusão deste sonho. Sem vocês, nada disso seria possível. Cada gesto de apoio sustentou meus passos ao longo dessa jornada.

Ao meu noivo Guilherme, por toda paciência, incentivo, cuidado e apoio intelectual. Sou imensamente grata por ter você em minha vida.

Aos amigos que me incentivaram e me ajudaram a seguir em frente nos dias difíceis, minha eterna gratidão. Vocês tornaram o caminho mais leve e possível. Agradeço, em especial, ao meu grande amigo Gabriel Henrique, pelas tantas trocas enriquecedoras, pela parceria e amizade ao longo da minha jornada no mestrado.

Agradeço à Ceva e à JA Saúde Animal pelo fornecimento dos medicamentos empregados neste experimento.

Por fim, agradeço a FAPEMIG (APQ-00825-22) pelo apoio financeiro, ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos e ao Programa de Desenvolvimento da Pós-Graduação (CAPES PDPG – Emergencial de Consolidação Estratégica dos Programas de Pós-Graduação *stricto sensu*) pela bolsa concedida.

RESUMO

Trypanosoma vivax é um protozoário responsável por prejuízos produtivos e reprodutivos na pecuária, cuja transmissão rápida e sinais clínicos inespecíficos dificultam o diagnóstico e controle da enfermidade. Objetivando minimizar o impacto da doença, este estudo avaliou a segurança clínica, os perfis hematológico e bioquímico e a resposta imunogênica em bovinos vacinados com uma proteína recombinante quimérica de *T. vivax* (PRqTv) no período de imunização e após o desafio com tripomastigotas. Foram utilizados 24 touros negativos para *T. vivax*, distribuídos em quatro grupos (n=6): controle (GC), adjuvante (GA: saponina+Hidróxido de alumínio), imunizado I (GI-I, 200µg PRqTv) e imunizado II (GI-II, 500µg PRqTv). Os animais receberam 2 mL dos respectivos inóculos por via subcutânea nos dias D0, D21 e D42, sendo o desafio realizado no D72 com 2×10^6 tripomastigotas/mL, também por via subcutânea. Os bovinos foram avaliados quanto aos parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos, parasitológicos e sorológicos ao longo do experimento (D147). Durante o período de imunização, não foram observadas reações locais ou sistêmicas atribuíveis à formulação vacinal. Observou-se aumento das frequências cardíaca, respiratória e da temperatura retal no D0 em alguns grupos, porém sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre eles. No mesmo período, constatou-se leucocitose por neutrofilia (GC e GI-II) e linfocitose (GI-I e GI-II), mantidas até o D42. A atividade sérica de ALT esteve acima dos valores de referência nos grupos GA e GI-II no D42. Hipoproteinemia e hipoalbuminemia foram observadas nos dias D0 e D21, enquanto proteína total e globulinas apresentaram aumento no D42. Os valores de ureia estiveram abaixo da referência nos grupos GA e GI-I no D0. Nenhum animal apresentou anticorpos anti-*T. vivax* ou parasitemia detectável durante a fase de imunização. Após o desafio, tripomastigotas sanguíneas foram detectadas a partir do 8º dia pós-infecção, com pico de parasitemia no D84. O grupo GA apresentou frequência cardíaca acima dos valores de referência no D98, e todos os grupos mantiveram escore de condição corporal abaixo do ideal durante o desafio. A temperatura retal esteve elevada no D84 nos grupos GA, GI-I e GI-II. Anemia foi observada no D84 nos grupos GC e GA, e no D91 em todos os grupos; no D98, GI-I e GI-II apresentaram aumento dos parâmetros eritrocitários em relação ao D91. No D84, observou-se redução dos valores de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos. A atividade de ALT esteve acima dos valores de referência nos grupos GA e GI-II no D84 e no GC no D98, enquanto AST, GGT e FA permaneceram dentro dos limites fisiológicos. Todos os grupos apresentaram hipoalbuminemia a partir do D84. As concentrações de bilirrubina total e indireta estiveram elevadas no GC nos dias D84 e D91. As médias de ureia nos grupos GC, GA e GI-I ficaram abaixo dos valores de referência no D126. Observou-se redução da glicemia no GC e hipoglicemia no GA no D84. Anticorpos IgG anti-*T. vivax* foram detectados no D84 em 16,7% dos animais do GA e em 50% dos grupos GI-I e GI-II. A soroconversão completa foi observada em todos os grupos a partir do D112. Esses resultados demonstram que a formulação vacinal contendo a PRqTv é segura e imunogênica em bovinos, induzindo soroconversão mais precoce (resposta humoral específica) e minimiza as alterações hematológicas e bioquímicas decorrentes da infecção experimental por *T. vivax*. Portanto, representa um avanço relevante na busca por imunógenos eficazes contra a tripanossomose bovina.

Palavras-chaves: Vacina, Tripanossomíase, Imunogenicidade, Proteína recombinante

ABSTRACT

Trypanosoma vivax is a protozoan responsible for productive and reproductive losses in livestock, whose rapid transmission and nonspecific clinical signs hinder the diagnosis and control of the disease. Aiming to minimize the impact of this infection, this study evaluated the clinical safety, hematological and biochemical profiles, and immunogenic response in cattle vaccinated with a recombinant chimeric protein of *T. vivax* (PRqTv) during the immunization period and after challenge with trypomastigotes. Twenty-four bulls negative for *T. vivax* were used and distributed into four groups (n=6): control (GC), adjuvant (GA: saponin + aluminum hydroxide), immunized I (GI-I, 200 µg PRqTv), and immunized II (GI-II, 500 µg PRqTv). The animals received 2 mL of the respective inocula subcutaneously on days D0, D21, and D42, and the challenge was performed on D72 with 2×10^6 trypomastigotes/mL, also subcutaneously. The cattle were evaluated for clinical, hematological, biochemical, parasitological, and serological parameters throughout the experiment (until D147). During the immunization period, no local or systemic reactions attributable to the vaccine formulation were observed. An increase in heart rate, respiratory rate, and rectal temperature was noted on D0 in some groups, but without significant differences ($p > 0.05$) among them. In the same period, leukocytosis due to neutrophilia (GC and GI-II) and lymphocytosis (GI-I and GI-II) were observed, persisting until D42. Serum ALT activity was above reference values in the GA and GI-II groups on D42. Hypoproteinemia and hypoalbuminemia were observed on D0 and D21, whereas total protein and globulins increased on D42. Urea values were below reference ranges in the GA and GI-I groups on D0. No animals showed anti-*T. vivax* antibodies or detectable parasitemia during the immunization phase. After challenge, bloodstream trypomastigotes were detected from the 8th day post-infection, with peak parasitemia on D84. The GA group showed heart rate values above reference ranges on D98, and all groups maintained body condition scores below ideal during the challenge phase. Rectal temperature was elevated on D84 in the GA, GI-I, and GI-II groups. Anemia was observed on D84 in the GC and GA groups, and on D91 in all groups; on D98, GI-I and GI-II showed increased erythrocytic parameters compared to D91. On D84, a reduction in total leukocytes, neutrophils, and lymphocytes was observed. ALT activity was above reference values in the GA and GI-II groups on D84 and in the GC group on D98, while AST, GGT, and ALP remained within physiological limits. All groups presented hypoalbuminemia from D84 onward. Total and indirect bilirubin concentrations were elevated in the GC group on D84 and D91. Mean urea levels in the GC, GA, and GI-I groups were below reference values on D126. A reduction in blood glucose was observed in the GC group and hypoglycemia in the GA group on D84. Anti-*T. vivax* IgG antibodies were detected on D84 in 16.7% of the animals in the GA group and in 50% of the GI-I and GI-II groups. Complete seroconversion was observed in all groups from D112 onward. These results demonstrate that the vaccine formulation containing PRqTv is safe and immunogenic in cattle, inducing earlier seroconversion (specific humoral response) and minimizing the hematological and biochemical alterations resulting from experimental *T. vivax* infection. Therefore, it represents a significant advancement in the search for effective immunogens against bovine trypanosomiasis.

Keywords: Vaccine; Trypanosomiasis; Immunogenicity; Recombinant protein.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Trypanosoma vivax</i> em sua forma tripomastigota em esfregaço sanguíneo e suas principais organelas: flagelo (A), cinetoplasto (B) e núcleo (C).	17
Figura 2. Ciclo biológico do <i>T. vivax</i> em ruminantes no continente africano.	18
Figura 3. Formulação vacinal com proteína recombinante quimérica de <i>T. vivax</i> envasada e pronta para ser inoculada nos bovinos experimentais.	28
Figura 4. Cronologia da execução do experimento nos períodos de imunização e desafio dos bovinos.	30
Figura 5. Média da parasitemia por <i>T. vivax</i> avaliada pelo método de <i>Buffy coat</i> (parasitas em 10 campos de microscopia óptica) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) ao longo dos dias experimentais (D0, D21, D42, D72, D73, D74, D75, D76, D77, D78, D79, D80, D81, D82, D83, D84, D85, D86, D87, D88, D89, D90, D91, D98, D112, D126 e D147). O eixo vertical representa a média da parasitemia e o eixo horizontal, os dias de avaliação durante o experimento.	42
Figura 6. Parâmetros clínicos dos bovinos expressos em média da frequência cardíaca (A), frequência respiratória (B), escore de condição corporal (C) e temperatura retal (D) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) nos dias experimentais (D0, D21, D42, D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147).....	44
Figura 7. Perfil hematológico dos bovinos expressos em média da contagem de hemácias (A), dosagem de hemoglobina (B), percentual de hematócrito (C) e contagem de leucócitos totais (D), neutrófilos (E), linfócitos (F) e monócitos (G) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) nos dias experimentais (D0, D21, D42, D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147).	48
Figura 8. Médias das dosagens de alanina aminotransferase (ALT) (A), aspartato aminotransferase (AST) (B), gama glutamiltransferase (GGT) (C), fosfatase alcalina (FA) (D) e creatina quinase (CK) (F) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42) e desafio (D72, D91, D98, D112, D126 e D147).....	53
Figura 9. Médias das dosagens de proteínas totais (A), albumina (B), globulinas (C), bilirrubina total (D), bilirrubina direta (E) e bilirrubina indireta (F) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42) e desafio (D72, D91, D98, D112, D126 e D147).	54

Figura 10. Médias das dosagem de creatinina (A), ureia (B) e glicose (C) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período experimental (D0, D21, D42, D72, D91, D98, D112, D126 e D147).....	56
Figura 11. Microscopia óptica de lâminas de imunofluorescência indireta (IFI) mostrando amostra negativa (A) e amostra positiva (B) com formas tripomastigotas de <i>Trypanosoma vivax</i> . Imagens obtidas em microscópio de imunofluorescência (EVOS™, 1000x).	56
Figura 12. Percentual de anticorpos anti- <i>Trypanosoma vivax</i> nos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) nos dias experimentais (D0, D21, D42, D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147).	57

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Protocolo de tratamento e médias \pm desvio padrão do peso (kg) e da idade (anos) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA) e imunizados com 200 μ g (GI-I) ou 500 μ g (GI-II) de proteína recombinante quimérica de *Trypanosoma vivax*, analisados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).29
- Tabela 2.** Frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e escore de condição corporal (ECC) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os dados estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).34
- Tabela 3.** Contagem de hemácias (He), dosagem de hemoglobina (Hg), percentual de hematócrito (Ht), contagem leucócitos totais (leuc), neutrófilos (neut), linfócitos (linf) e monócitos (mon) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).36
- Tabela 4.** Dosagem de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), proteínas totais (PT), albumina (Alb) e globulina (Glob) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).38
- Tabela 5.** Dosagem de bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).39
- Tabela 6.** Dosagem de creatinina (Creat), ureia e glicose dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e foram analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).40
- Tabela 7.** Parasitemia dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, 21 e D42) e desafio experimental

com <i>T. vivax</i> (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média ± desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais.	41
Tabela 8. Frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e escore de condição corporal (ECC) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com <i>T. vivax</i> (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média ± desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).	43
Tabela 9. Contagem de hemácias (He), dosagem de hemoglobina (Hg) e percentual de hematócrito (Ht) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com <i>T. vivax</i> (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média ± desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).	46
Tabela 10. Contagem leucócitos totais (leuc), neutrófilos (neut), linfócitos (linf) e monócitos (mon) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com <i>T. vivax</i> (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média ± desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).	47
Tabela 11. Dosagem de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com <i>T. vivax</i> (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média ± desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).	50
Tabela 12. Dosagem de proteínas totais (PT), albumina (Alb) e globulina (Glob) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com <i>T. vivax</i> (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média ± desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).	51
Tabela 13. Dosagem de bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com <i>T. vivax</i> (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147).	

Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$)..... 52

Tabela 14. Dosagem de ureia e creatinina (Creat) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$)..... 55

LISTA DE ABREVIATURAS

- ALT – alanina aminotransferase
- AST – enzima aspartato aminotransferase
- BPM – batimentos por minuto
- DA – aceturato de diminazeno
- DPI – dia pós infecção experimental
- ECC – escore de condição corporal
- ELISA – ensaio imunoenzimático
- FA – fosfatase alcalina
- FC – frequência cardíaca
- FR – frequência respiratória
- GA – Grupo Adjuvante
- GC – Grupo Controle
- GGT – enzimas gamaglutamiltransferase
- GI-I – Grupo Imunizado I
- GI-II – Grupo Imunizado II
- IFI – imunofluorescência indireta
- IFN- γ – interferon-gama
- ISM – cloreto de isometamídio
- MPM – movimentos respiratórios por minuto
- NK – *Natural Killer*
- PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
- SC – subcutânea
- TR – temperatura retal
- Trypanosoma vivax* – *T. vivax*
- VSG – glicoproteínas de superfície variáveis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Aspectos gerais do <i>Trypanosoma vivax</i>	17
2.2 Transmissão e ciclo biológico.....	17
2.3 Fisiopatogenia e curso da infecção	19
2.4 Relação parasito-hospedeiro e aspectos da resposta imunológica frente à infecção por <i>Trypanosoma vivax</i>	21
2.5 Sinais clínicos	21
2.6 Achados laboratoriais.....	22
2.7 Diagnóstico	24
2.8 Tratamento	25
2.9 Vacinas para <i>Trypanosoma vivax</i> : da prospecção à utilização em condições de campo	25
3 OBJETIVOS.....	27
3.1 Objetivo geral	27
3.2 Objetivos específicos	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Normas éticas.....	27
4.2 Local	27
4.3 Obtenção da vacina com proteína recombinante quimérica <i>T. vivax</i> (PRqTv).....	28
4.4 Grupos experimentais	28
4.5 Protocolo de imunização e desafio	29
4.6 Avaliação da segurança clínica	30
4.7 Avaliação parasitológica (<i>Buffy coat</i>)	30
4.8 Perfil hematológico.....	31
4.9 Perfil bioquímico	31
4.10 Perfil sorológico.....	32
4.11 Análise estatística.....	32
5 RESULTADOS.....	33
5.1 Imunização.....	33
5.2 Desafio.....	40
6 DISCUSSÃO.....	57
7 CONCLUSÕES.....	63

REFERÊNCIAS	64
ANEXO A – CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL (UNIUBE)	73

1 INTRODUÇÃO

A tripanossomíase bovina, causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma vivax* (*T. vivax*), é amplamente distribuída na África, Ásia e América do Sul (Fetene et al., 2021). Na América do Sul, o Brasil se destaca como uma área endêmica sendo o protozoário encontrado nas regiões norte (Linhares et al., 2006; Serra et al., 2024), nordeste (Vieira et al., 2017; Batista et al., 2018), sudeste (Cadioli et al., 2012; Reis et al., 2019; Bastos et al., 2020), sul (Silva et al., 2009a) e centro-oeste (Silva et al., 1996; Bastos et al., 2017).

Esta enfermidade causa perdas significativas na produção de carne, leite e na reprodução, especialmente em regiões endêmicas (Castelli et al., 2021). As perdas econômicas associadas ao *T. vivax* são consideráveis, com estimativas de aproximadamente US\$ 5 bilhões anuais na África. O continente também gasta cerca de US\$ 30 milhões por ano em tratamentos profiláticos para controlar a tripanossomíase bovina (Fetene et al., 2021). No Brasil, a situação é igualmente preocupante, com perdas de até US\$ 3 bilhões e mais de 11 milhões de bovinos infectados (Angara; Ismail; Ibrahim, 2012; Couto et al., 2024).

A transmissão de *T. vivax* para bovinos ocorre de maneira diferente dependendo da região. Na África, os vetores biológicos são as moscas tsé-tsé (*Glossina* spp.), que são restritas a essa região (Desquesnes et al., 2022).

No Brasil, estudos sugerem que a transmissão mecânica de *T. vivax* para bovinos pode ocorrer através de moscas hematófagas como *Stomoxys* sp e Tabanídeos (Batista et al., 2007; Cuglovici et al., 2010; Costa et al., 2020, bastos et al., 2020, Dyonisio et al., 2020) e por via iatrogênica, através de fômites contaminados (Bastos et al., 2020). Porém em um estudo experimental realizado por Heller et al., (2024) não se observou a transmissão mecânica de *T. vivax* por *Stomoxys calcitrans*.

Animais acometidos por *T. vivax* frequentemente apresentam sintomas clínicos inespecíficos que podem variar desde quadros agudos com febre, anemia e morte súbita, até formas crônicas, que se caracterizam por emagrecimento progressivo e queda na performance produtiva e reprodutiva (Parra-Gimenez; Reyna-Bello, 2019). Além disso, sua ocorrência pode ser associada à presença de outros agentes infecciosos (Pandolfi et al., 2024).

Além da falta de sinais clínicos específicos, durante o curso da infecção ocorrem flutuações na parasitemia (Osório et al., 2008), o que torna a detecção do *T. vivax* um desafio (Silva et al., 2020). O diagnóstico laboratorial pode ser realizado a partir de testes diretos e indiretos. Na fase aguda da doença, é recomendada a utilização de métodos diretos como esfregaços sanguíneos, *Buffy Coat*, microhematócrito, Brenner e Reação em Cadeia da

Polimerase (PCR). Já na fase crônica, técnicas parasitológicas apresentam baixa capacidade de identificar animais infectados, então, as sorologias como o ensaio imunoenzimático (ELISA) e imunofluorescência (IFI) são comumente utilizadas para detectar anticorpos anti-*T. vivax* (Osório et al., 2008; Alcindo et al., 2022).

Os tratamentos disponíveis para tripanossomíase bovina no Brasil têm se baseado no uso de medicamentos antiparasitários específicos, o aceturato de diminazeno (DA) e o cloreto de isometamídio (ISM), ambos regulamentados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Kasozi et al., 2022). No entanto, a eficácia desses tratamentos tem sido objeto de debate, uma vez que estudos indicam que *T. vivax* tem desenvolvido resistência ao DA (Sow et al., 2012; Boma et al., 2022; Ungogo; de Koning, 2024). Em paralelo à isso, Castilho Neto et al., (2021) acompanharam bovinos leiteiros naturalmente infectados por *T. vivax* após tratamento com ISM e observaram a persistência da infecção, sendo este o primeiro estudo a evidenciar uma possível resistência do protozoário ao ISM no Brasil.

Diante disso, pesquisadores têm se dedicado ao desenvolvimento de vacinas como alternativas profiláticas para o combate da tripanossomíase (De Oliveira, 2023, Ungogo; De Koning, 2024). As vacinas com proteínas recombinantes quiméricas são vantajosas porque combinam diferentes regiões imunogênicas de proteínas do parasita, aumentando assim a eficácia da resposta imune (Dinc, 2022). Além disso, o uso de adjuvantes como a saponina e o hidróxido de alumínio como imunoestimulante potencializa e prolonga a resposta imunológica. Embora possam causar efeitos adversos, sua utilização cuidadosa torna possível desenvolver uma vacina mais eficaz e segura (Fan et al., 2022).

Em estudos prévios, nossa equipe desenvolveu uma proteína recombinante quimérica (Patente BR 102019003717-2) por meio da identificação de peptídeos imunologicamente ativos identificados pela técnica imunoinformática e prospecção genômica. Os peptídeos demonstraram reatividade com anticorpos anti-*T. vivax* e indução de proliferação celular de linfócitos T e linfócitos B em teste de estimulação *in vitro* utilizando células obtidas de sangue de bovinos infectados. Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial imunogênico e a segurança clínica da proteína recombinante quimérica em bovinos experimentalmente imunizados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais do *Trypanosoma vivax*

Trypanosoma vivax é o agente responsável pela tripanossomíase em bovinos. É um hemoprotozoário pertencente ao filo Euglenozoa, classe Mastigophora, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e subordem Trypanosomatina. O agente está incluído no subgênero *Dutonella* e na seção *Salivaria*, o que significa que sua inoculação na corrente sanguínea se dá a partir da saliva de vetores contaminados durante o repasto sanguíneo (Hoare, 1972; Gardiner, 1989).

É um protozoário pleomórfico, medindo entre 20 e 26 μm , com um corpo alongado e achatado. Possui um único flagelo livre e cinetoplasto de formato elíptico, posicionado na porção subterminal do organismo (Felipe; Kataoka, 2019). O flagelo origina-se adjacente ao cinetoplasto e se estende longitudinalmente ao longo do corpo celular, acompanhando a membrana ondulante, que é responsável pela motilidade do protozoário (Figura 1) (Dávila; Ramirez; Silva, 1997).

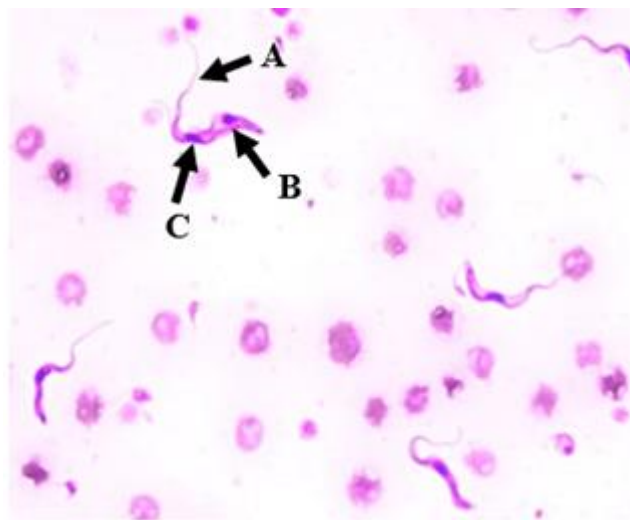


Figura 1. *Trypanosoma vivax* em sua forma tripomastigota em esfregaço sanguíneo e suas principais organelas: flagelo (A), cinetoplasto (B) e núcleo (C).

Fonte: Arquivo pessoal

2.2 Transmissão e ciclo biológico

O ciclo do *T. vivax* envolve dois hospedeiros: um hospedeiro definitivo e um hospedeiro invertebrado. Os hospedeiros definitivos mais comuns nas tripanossomíases causadas por *T. vivax* são os bovinos, bubalinos, ovinos e caprinos, enquanto o hospedeiro

invertebrado, responsável pela transmissão cíclica do protozoário, é a mosca tsé-tsé (*Glossina* spp.) (Levine, 1973; Gardiner, 1989). No entanto, essa espécie de mosca é restrita aos países do continente africano (Osório et al., 2008).

A mosca tsé-tsé transmite as formas infectantes de *T. vivax*, denominadas tripomastigotas metacíclicas, que são ingeridas pelo vetor durante o repasto sanguíneo. Dentro do organismo do hospedeiro, as formas evoluem para tripomastigotas, que se multiplicam na corrente sanguínea por fissão binária (Osório et al., 2008). Quando a mosca tsé-tsé realiza um novo repasto sanguíneo, ela ingere as tripomastigotas, que se transformam em epimastigotas ao alcançarem o esôfago e a faringe do inseto. Após cerca de 24 horas, essas formas migram para a hipofaringe e, nas glândulas salivares, se multiplicam, retornando à forma tripomastigota e se diferenciando em formas infectantes (metatripanosomas) (Figura 2) (Baral, 2010; Castelli et al., 2021).

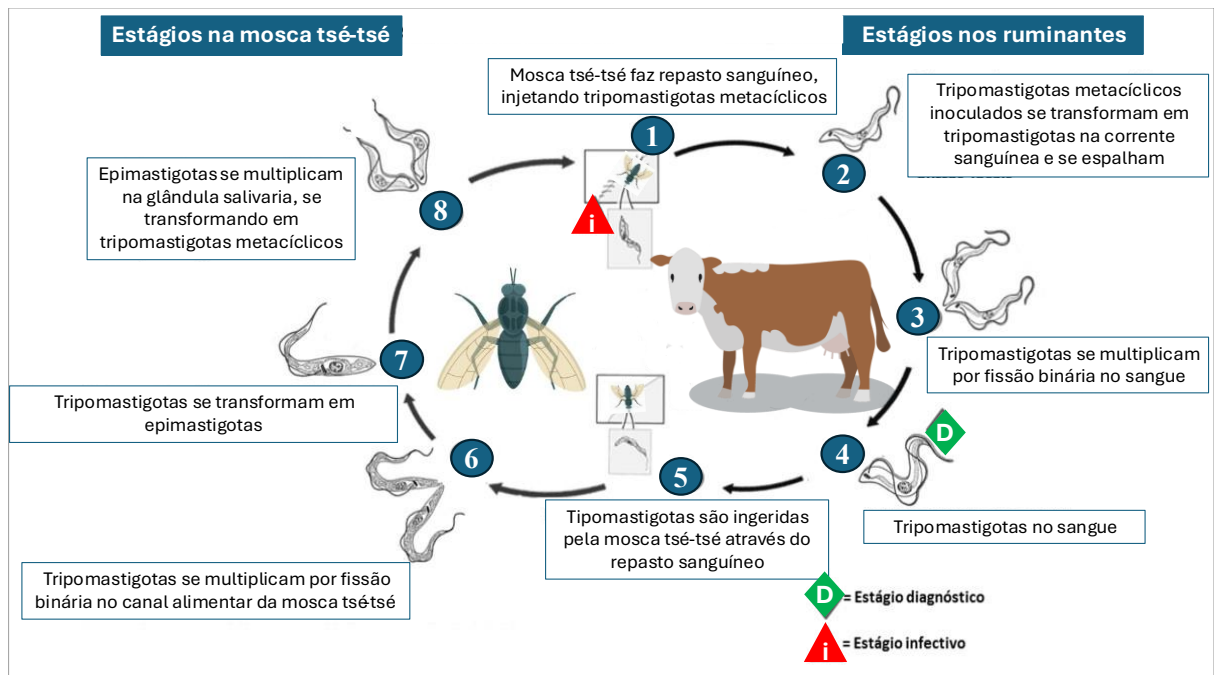


Figura 2. Ciclo biológico do *T. vivax* em ruminantes no continente africano.

Fonte: Adaptado de Baral (2010).

Como a mosca tsé-tsé não está presente no Brasil, portanto, a transmissão de *T. vivax* ocorre de forma mecânica por moscas hematófagas dos gêneros *Tabanus* (mutuca) e *Stomoxys* sp (mosca dos estábulos) (Desquesnes, 2004; Desquesnes; Dia, 2004). Contudo, Heller et al. (2024) não observaram experimentalmente a transmissão mecânica de *T. vivax* por *Stomoxys calcitrans*.

A transmissão de *T. vivax* por via iatrogênica, através de fômites, como agulhas contaminadas com sangue infectado, é considerada a principal forma de transmissão no Brasil (Couto et al., 2021). Isso ocorre com frequência na aplicação de ocitocina em bovinos de aptidão leiteira, em que é comum o uso da mesma agulha para todos os animais (De Melo Junior et al., 2021).

De Melo Júnior et al. (2021) demonstraram que a reutilização da mesma seringa e agulha, provenientes de um animal com infecção aguda por *T. vivax*, foi capaz de transmitir o parasito, com taxas de infecção de 30% (3/10), 50% (5/10) e 80% (8/10) para as vias subcutânea, intramuscular e intravenosa, respectivamente. Neste contexto, Leal et al. (2025) demonstraram pela primeira vez a transmissão de *T. vivax* por meio da reutilização de luvas de palpação de um animal infectado para um saudável, com a presença de formas tripomastigotas variando conforme a quantidade de sangue contaminado na luva. Neste estudo os pesquisadores também abordaram a eficácia das concentrações do iodo como desinfetante, e encontraram que a solução a 1% foi 100% eficaz, enquanto a solução a 0,5% reduziu a taxa de infecção em 70 a 80%.

A via de transmissão transplacentária já foi relatada durante um surto da infecção no Brasil (Batista et al., 2012). Outra via de transmissão que tem sido objeto de estudo é a reprodutiva, por meio de sêmen contaminado. Em um estudo recente, Couto et al. (2022) detectaram a presença de DNA do protozoário em amostras de sêmen de 5 dos 8 animais infectados (62,5%), sugerindo possível transmissão por esta via.

2.3 Fisiopatogenia e curso da infecção

A patogênese da infecção por *T. vivax* é influenciada por diversos fatores, tanto do hospedeiro quanto do parasita. Entre os fatores do hospedeiro, destacam-se a idade, raça, estado nutricional, presença de infecções concomitantes, tolerância do animal ao protozoário e condições como gestação ou lactação. Já em relação ao parasita, a virulência da cepa envolvida também desempenha um papel crucial no desenvolvimento da doença (Dagnachew; Bezie, 2015).

A capacidade natural dos bovinos em tolerar o protozoário sem a necessidade de tratamentos é chamada de tripanotolerância (Hill et al., 2005). Entre os animais tripanotolerantes, os zebuínos se destacam, pois apresentam características genéticas associadas à resistência e tolerância a parasitas e doenças infecciosas, o que permite controlar a parasitemia (Naessens et al., 2004; De Mendonça et al., 2024). Esse controle muitas vezes ocorre por meio

da resposta imune inata, que envolve a ativação de células como macrófagos, neutrófilos e células NK (Natural Killer), além da liberação de citocinas inflamatórias que auxiliam na contenção da proliferação do parasita (Baral, 2010; Musaya et al., 2015).

Embora o controle da infecção em animais tripanotolerantes seja eficaz, a habilidade dos animais em controlar a parasitemia pode variar de acordo cepas de *T. vivax* envolvidas (Hill et al., 2005). Isso ocorre porque o protozoário utiliza um mecanismo de variação antigênica, alterando os antígenos de superfície das células, como as glicoproteínas de superfície variáveis (VSG), que representam cerca de 56% de sua superfície. Elas estimulam a produção de IL-1 e TNF- α , citocinas que podem suprimir a eritropoiese e a produção de proteínas de fase aguda (Baral, 2010; Horn, 2014). Essa habilidade permite que o parasita evite o reconhecimento pelo sistema imunológico do hospedeiro, exigindo que o organismo produza constantemente novos anticorpos para combater as formas antigênicas emergentes (Baral, 2010).

O período pré-patente da tripanossomíase bovina costuma variar de nove a 14 dias para os isolados virulentos (Hill et al., 2005). Bassi et al. (2018) em pesquisa para avaliar a cinética dos sinais parasitológicos e parâmetros sorológicos em bovinos infectados experimentalmente com *T. vivax*, encontraram formas tripomastigotas do protozoário a partir do 12º dia pós infecção experimental (dpi).

Durante a multiplicação na corrente sanguínea, os protozoários espalham-se de maneira uniforme pelo sistema cardiovascular e pela circulação linfática. Essa rápida proliferação marca o início da fase de parasitemia da doença, durante a qual os parasitas alcançam altas concentrações no organismo (Batista et al., 2007; Almeida et al., 2010; Castilho Neto et al., 2021).

A parasitemia nas tripanossomíases pode apresentar flutuações, além de períodos aparasitêmicos, ou seja, sem a possibilidade de detecção dos parasitas na corrente sanguínea. Este evento é atribuído às mudanças antigênicas nas VSG dos tripanossomos unido à resposta imune do hospedeiro. A parasitemia pode durar entre uma semana e dois meses antes das formas tripomastigotas se tornarem indetectáveis no sangue. Após essa fase, os períodos de recorrência da parasitemia podem ocorrer (Fidelis Junior et al., 2016). Schenk et al. (2001) avaliaram bovinos Nelore infectados experimentalmente com *T. vivax* e observaram parasitemia a partir do terceiro e quarto dia pós infecção, persistindo até o 30º dia.

2.4 Relação parasito-hospedeiro e aspectos da resposta imunológica frente à infecção por *Trypanosoma vivax*

Durante a infecção por *T. vivax*, observa-se um aumento acentuado dos níveis de IgM nos primeiros dias após a infecção, coincidindo com a detecção de tripomastigotas no sangue periférico (Baral, 2010; Bassi et al., 2018). Esses níveis podem ser de 2 a 10 vezes superiores aos basais e permanecem elevados durante a fase aguda, retornando à normalidade após a eliminação do parasita (Taylor, 1998). A IgG, por sua vez, apresenta pouca variação inicial, sugerindo que a resposta humoral é predominantemente mediada por IgM, embora anticorpos IgG específicos possam ser detectados ao longo da infecção, com maiores concentrações após o pico de parasitemia (Bassi et al., 2018).

Os anticorpos produzidos durante a infecção podem exercer efeito protetor, contribuindo para a eliminação do parasita e a neutralização de produtos parasitários (Taylor, Katherine A., 1998). Bassi et al. (2018) observaram em um experimento que 100% dos bovinos experimentalmente infectados apresentaram títulos de IgG (variação de 1:160 a 1:1024), juntamente com a redução da parasitemia 30 dias após a infecção.

De acordo com Desquesnes e Tresse (1996), altos níveis de IgG específica estão associados ao controle da parasitemia, indicando que a redução da carga parasitária e dos sinais clínicos depende diretamente dessa resposta humoral. No entanto, a resposta de anticorpos do hospedeiro contra *T. vivax* pode ser ineficaz em determinadas situações, uma vez que os parasitos podem modificar a expressão de suas VSGs, fazendo com que o sistema imune precise reconhecer e moldar uma nova resposta (Hill et al., 2005; Baral, 2010).

2.5 Sinais clínicos

As fases da infecção por *T. vivax* em bovinos são reconhecidas como: superaguda, aguda ou crônica (Desquesnes, 2004; Batista et al., 2008; Cadioli et al., 2012).

A fase superaguda é caracterizada por elevada parasitemia, podendo levar o animal a óbito em até três semanas de infecção. Os sinais clínicos se manifestam em ciclos que duram de duas a três semanas, período durante o qual há a liberação de pirógenos pelo parasita, desencadeando episódios febris no animal (Osório et al., 2008; Constable et al., 2016).

Na fase aguda da doença, os sinais clínicos mais evidentes em bovinos parasitados são: febre, anemia, leucopenia, apatia, mucosas hipocoradas, secreção ocular, secreção nasal, frequências respiratória e cardíaca aumentadas, opacidade de córnea, diarreia, claudicação,

redução no escore de condição corporal (ECC), abortos, distúrbios neurológicos, além de petéquias e equimoses nas mucosas e linfadenomegalia (Batista et al., 2006; Osório et al., 2008; Cadioli et al., 2012; Fidelis Junior et al., 2016).

A anemia provocada por *T. vivax* é a alteração mais frequente observada em infecções pelo agente. Ela é considerada multifatorial, sendo atribuída à hemólise intra e extravascular, diminuição ou inibição da eritropoiese e hemorragias (Almeida et al., 2008; Stijlemans et al., 2018). Isto ocorre devido à deposição de imunocomplexos na superfície dos eritrócitos, que leva à eritrofagocitose podendo levar a lesões teciduais, principalmente inflamações ou necrose em baço, fígado e cérebro (Taylor, 1998; Batista et al., 2008; Pereira et al., 2018). Schenk et al. (2001) encontraram que o aumento do protozoário na corrente sanguínea coincidiu com a elevação da temperatura decréscimo dos valores do hematócrito, desencadeando a anemia.

Batista et al. (2006) demonstraram que a infecção por *T. vivax* influencia na perda de ECC. Segundo Fidelis Junior et al. (2016), a redução está associada à presença de grandes quantidades de *T. vivax* circulantes, aumentando o gasto energético em processos febris e diminuindo a disponibilidade de energia para o hospedeiro, além do elevado consumo energético provocado pela resposta imunológica, ou ainda à liberação de citocinas, como o TNF- α , que interferem na disponibilidade de substratos energéticos nos animais infectados (Parra-Gimenez; Reyna-Bello, 2019; Costa et al., 2020).

As alterações neurológicas relatadas são os tremores musculares e incoordenação motora e alterações do músculo esquelético. Alterações cardíacas como miocardite e hemorragias no epicárdio também podem ocorrer (Batista et al., 2008; Almeida et al., 2010; Chamond et al., 2010; Cadioli et al., 2012).

Posteriormente à fase aguda, o animal pode evoluir para a fase crônica, caracterizada pelo normalização nos parâmetros eritrocitários e baixa parasitemia (Fidelis Junior et al., 2016; Parra-Gimenez; Reyna-Bello, 2019).

2.6 Achados laboratoriais

No hemograma, ocorre redução na dosagem de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito. As hemácias normalmente apresentam macrocitose e normocromia (Bassi et al., 2018). Além disso, podem ser observadas anisocitose, policromasia e a presença de corpos intracelulares de Howell-Jolly, os quais ocorrem como uma tentativa de compensar a perda de eritrócitos durante a infecção por *T. vivax* (Batista et al., 2007; Almeida et al., 2008).

Em relação ao leucograma, aumento das populações de neutrófilos, monócitos e linfócitos pode ser observado (Bassi et al., 2018; Lopes et al., 2018). A neutrofilia ocorre pelo aumento significativo no número total de neutrófilos, e indica processo de resposta imune inata (Espinoza et al., 2000).

A leucopenia pela redução de neutrófilos e linfócitos pode ocorrer no início da infecção e é atribuída à presença persistente do tripanosoma na circulação, pela liberação de fatores tóxicos aos leucócitos e também pela leucofagocitose hepática (Bassi et al., 2018). Igbokwe e Anosa (1989) observaram que a neutropenia ocorre pela depressão dos precursores de granulócitos na medula óssea, juntamente com o sequestro de neutrófilos pelo baço. Além disso, Esievo e Saror (1983) sugeriram que a linfopenia precoce observada no curso da tripanossomíase pode ser influenciada por grandes quantidades de antígenos tripanossomais e neuraminidase plasmática liberada pelos tripanossomas durante essa fase da infecção. O estresse oxidativo e a resposta inflamatória exacerbada em bovinos infectados contribuem para a redução destas células (Fritzen et al., 2025).

A redução na contagem de monócitos e neutrófilos no final da infecção pode ocorrer devido aos mecanismos lentos da resposta dos neutrófilos nos bovinos e aumento do consumo pela mobilização destes para os locais de inflamação além da reparação celular e tecidual causada pelos macrófagos (Murray; Murray; McIntyre, 1977; Taylor, 1998).

A redução do número de plaquetas na circulação também está associada ao aumento da parasitemia e ocorre pelos mesmos processos desencadeados pela anemia pois também há fagocitose generalizada destas células pelos macrófagos (Chamond et al., 2010; Bassi et al., 2018). Fidelis Junior et al. (2016) associaram a trombocitopenia encontrada nos animais com o consumo de plaquetas na formação de microtrombos induzida pelo protozoário.

Entre as alterações bioquímicas séricas observadas em casos de alta parasitemia, ocorre a hipoglicemia. As alterações nas concentrações de glicose plasmática podem ser explicadas pelo fato de os tripanossomas utilizarem a glicose como uma fonte de energia (Barrett et al., 1998). O protozoário possui transportadores específicos em sua membrana plasmática, facilitando absorção dessa molécula. Esse mecanismo de difusão facilitada permite que o parasito tenha uma grande eficiência na absorção de glicose, o que pode resultar em hipoglicemia (Barrett et al., 1998; Fidelis Junior et al., 2016). Lopes et al. (2018) observaram redução na glicemia de vacas leiteiras naturalmente infectadas por *T. vivax*.

Parâmetros como a enzima aspartato aminotransferase (AST) e enzimas gamaglutamiltransferase (GGT) podem sofrer redução. Esta redução pode ser atribuída a lesões musculares provocadas pelo protozoário, acarretando em neurodegeneração e morte celular, e

também pela possibilidade de alterações hepáticas (Almeida et al., 2008; Fidelis Junior et al., 2016).

O aumento nas proteínas totais e inversão da relação albumina:globulina é citada por (Fidelis Junior et al., 2016; Lopes et al., 2018). Este aumento nas proteínas totais foi observado por Silva et al. (2009) em vacas infectadas por *T. vivax* no Rio Grande do Sul. Em paralelo a isso, o aumento de globulina é esperado, pois a infecção por *T. vivax* gera uma resposta imune do hospedeiro, levando à produção de anticorpos como forma de controlar e erradicar o parasita. Ainda, a hiperglobulinemia pode ser atribuída a um aumento de IgG e principalmente IgM (Katunguka-Rwakishaya, 1996; Schenk et al., 2001).

A bilirrubina total e suas frações podem apresentar aumento em casos de anemia grave, decorrente da hemólise. Kadima et al. (2000), em sua pesquisa para avaliar parâmetros bioquímicos em bovinos com tripanossomíase encontraram valores de bilirrubina inicialmente dentro da faixa de normalidade (3 a 6 dias após a infecção), seguida por aumento intermitente, ocasionado pela destruição dos glóbulos vermelhos e sobrecarga hepática para conjugar a bilirrubina circulante. Kadima et al. (2000) também observaram valores de ureia normais até o 6º DPI, com redução significativa após o 7º DPI, sugerindo danos renais devido à excreção da ureia pelos rins.

2.7 Diagnóstico

O diagnóstico da tripanossomíase em bovinos é realizado de diversas maneiras. Inicialmente, o exame clínico do animal pode ser realizado a partir da observação dos sinais clínicos da doença. Entretanto, os animais podem estar em fase assintomática da doença. Desta forma, os exames laboratoriais são a forma definitiva de diagnóstico. Os métodos são divididos em diretos, indiretos e moleculares e definição sobre qual deve ser utilizado é baseada na fase da doença em que o animal se encontra (Pandolfi et al., 2024).

Os principais métodos diretos são os parasitológicos, como a técnica *Buffy Coat*, microhematócrito e Brenner. Esses métodos são muito específicos e recomendados para a fase aguda da doença, quando a circulação de parasitas no sangue é alta. A técnica de *Buffy Coat* é eficaz e pode detectar até 50% mais casos de infecção por tripanosomas do que o microhematócrito (Murray; Murray; Mcintyre, 1977) sendo particularmente útil para detectar tripomastigotas em animais com alta parasitemia, sendo eficiente na identificação da fase aguda da doença (Batista et al., 2012).

Nesse cenário, métodos indiretos, como o Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e a Imunofluorescência Indireta (IFI), são amplamente utilizados por sua alta sensibilidade. Esses testes são eficazes na triagem e titulação de anticorpos, fornecendo informações valiosas sobre a infecção no rebanho (Castilho Neto et al., 2021). No entanto, devido a persistência de anticorpos por longos períodos não é possível diferenciar animais com infecção ativa daqueles já curados (Cadioli et al., 2015).

Métodos moleculares, como a PCR, são considerados eficazes para a detecção de DNA de *T. vivax* em fase de parasitemia (Da Silva et al., 2022). Alves et al. (2017) compararam os métodos PCR e microhematócrito e observaram que a PCR demonstrou maior sensibilidade em relação ao microhematócrito, uma vez que foi capaz de detectar DNA de *T. vivax* em 35 amostras negativas na técnica parasitológica. Na fase inicial da infecção, ambos os métodos apresentam sensibilidades semelhantes, no entanto, durante a fase crônica, a qual é caracterizada por baixos níveis de parasitemia devido à resposta humoral, a sensibilidade do microhematócrito pode ser inferior a 10%, enquanto a da PCR é duas a três vezes superior (Desquesnes et al., 2022).

2.8 Tratamento

Os únicos tratamentos regulamentados pelo MAPA no Brasil com ação tripanocida são o DA e o ISM (Kasozi et al., 2022). Falhas no tratamento podem ser observadas em situações em que existe processo de tolerância do parasita às drogas disponíveis, uso incorreto dos tripanocidas e ao estado de saúde debilitado do animal (Giordani et al., 2020).

Estudos têm evidenciado falhas no tratamento, possivelmente pela resistência adquirida pelo parasita frente aos tripanocidas, levando ao comprometimento da eficácia do tratamento e persistência da infecção, dificultando a recuperação do animal (Sow et al., 2012; Boma et al., 2022; Kasozi et al., 2022; Ungogo; De Koning, 2024). Apesar da limitação das ferramentas de diagnóstico para avaliar a base molecular que leva a resistência do agente frente às drogas tripanocidas, um experimento recente realizou análise da resistência de *T. vivax* isolados de ovinos frente ao DA e o ISM (Boma et al., 2022). Estes autores observaram recidivas no 13º dia pós-tratamento com DA e no 14º e 16º no grupo tratado com ISM.

2.9 Vacinas para *Trypanosoma vivax*: da prospecção à utilização em condições de campo

Ao longo dos anos, as pesquisas sobre vacinas contra as tripanossomíases se concentraram principalmente nas moléculas de VSG. No entanto, não conseguiram gerar uma proteção imunológica eficaz. O principal desafio com as VSG é a variabilidade genética do parasita, que é capaz de gerar uma grande diversidade de moléculas através de rearranjos genéticos (Baral, 2010; Horn, 2014).

Diversas abordagens foram testadas para o desenvolvimento de vacinas contra os tripanosomatídeos, mas muitos desses testes resultaram em respostas imunológicas fracas ou inexistentes. Por exemplo, vacinas feitas a partir de parasitos irradiados (Duxbury et al., 1972), assim como vacinas baseadas em antígenos específicos ou proteínas de membranas purificadas (Wells et al., 1982; Mkunza; Olaho; Powell, 1995; Lubega; Byarugaba; Prichard, 2002).

Mais recentemente, foi criada uma vacina utilizando proteína recombinante isolada do flagelo de *T. vivax*, chamada IFX, que foi testada em camundongos e mostrou capacidade imunoprotetora nestes animais (Autheman et al., 2021).

As vacinas recombinantes utilizam proteínas sintéticas que imitam partes específicas das proteínas do patógeno, as quais são essenciais para a interação entre o parasita e o hospedeiro. Essas regiões específicas das proteínas são chamadas de epítomos. Os epítomos podem ser produzidos em laboratório a partir de sequências de aminoácidos que podem ser modificados para melhorar a estabilidade, a especificidade e a capacidade de induzir uma resposta imune eficaz (Autheman et al., 2021). Essas modificações tornam as proteínas mais estáveis e específicas, com menos riscos de reações cruzadas com outras proteínas do organismo, o que reduz o risco de efeitos colaterais (La Greca; Magez, 2011; Nascimento; Leite, 2012).

As proteínas quiméricas, por sua vez, têm mostrado vantagens em relação às proteínas recombinantes tradicionais, pois combinam múltiplos epítomos de diferentes patógenos. Essas vacinas quiméricas podem estimular de forma eficaz a ativação de células T, promovendo uma resposta do tipo Th1, caracterizada pela produção de citocinas pró-inflamatórias, como o interferon-gama (IFN- γ). A resposta Th1 é crucial para a defesa contra parasitas, resultando em uma proteção mais eficiente e duradoura. Isso ocorre porque ela abrange diversos aspectos da resposta imune adaptativa, incluindo a ativação de células T CD4⁺ e a promoção de respostas imunes celulares robustas (Ostolin et al., 2021; Lage et al., 2022).

Para potencializar ainda mais a resposta imunológica, as vacinas de proteínas recombinantes frequentemente contêm adjuvantes, como saponina e hidróxido de alumínio, por atuarem no estímulo do sistema imune inato, atraindo células apresentadoras de antígeno, como macrófagos e células dendríticas, por quimiotaxia. Essas células, ao capturarem e processarem

o antígeno, estimulam a ativação de linfócitos T, especialmente as células T CD4⁺, que são essenciais para a resposta imunológica adaptativa (Silva et al., 2004; Oliveira, 2023).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a segurança clínica, os perfis hematológicos, bioquímicos e a resposta imunogênica induzida pela vacinação de bovinos imunizados com a proteína recombinante quimérica de *Trypanosoma vivax* no período de imunização e após o desafio com tripomastigotas.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a segurança clínica da proteína quimérica de *T. vivax*.
- Avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos dos bovinos experimentais durante o período de imunização.
- Avaliar se a proteína quimérica de *T. vivax* induz a produção de anticorpos nos bovinos experimentais durante o período de imunização
- Avaliar parasitemia dos bovinos experimentais após o desafio com tripomastigotas de *T. vivax*.
- Avaliar os parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos dos bovinos experimentais após o desafio com tripomastigotas de *T. vivax*.
- Avaliar o nível de anticorpos séricos após o desafio com tripomastigotas de *T. vivax*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Normas éticas

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Uberaba sob o número de processo 005/2022 (ANEXO A).

4.2 Local

O experimento a campo foi realizado no Campo Experimental Getúlio Vargas (EPAMIG) em Uberaba - MG. A vacina recombinante quimérica foi produzida na Universidade Federal de Viçosa (Viçosa-MG) e as análises hematológicas, bioquímicas, parasitológicas (*Buffy coat*) e imunológica (resposta humoral) foram realizadas no laboratório de Sanidade e Produção Animal nos Trópicos na Universidade de Uberaba - Uniube (Uberaba - MG).

4.3 Obtenção da vacina com proteína recombinante quimérica *T. vivax* (PRqTv)

A formulação vacinal com a proteína recombinante quimérica (Patente BR102019003717 2) foi obtida no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade de Viçosa, a partir do cultivo da bactéria transformante em meio Luria Bertani, purificada por cromatografia de afinidade e testada em relação a estabilidade por eletroforese em gel de poli-acrilamida durante 6 meses. Os adjuvantes Saponina (0,1%) e Hidróxido de alumínio (0,2%) foram adicionados à proteína recombinante para posterior envase e utilização na imunização dos bovinos (Figura 3). Após foi enviada para a Universidade de Uberaba, devidamente acondicionada, para a realização da imunização.

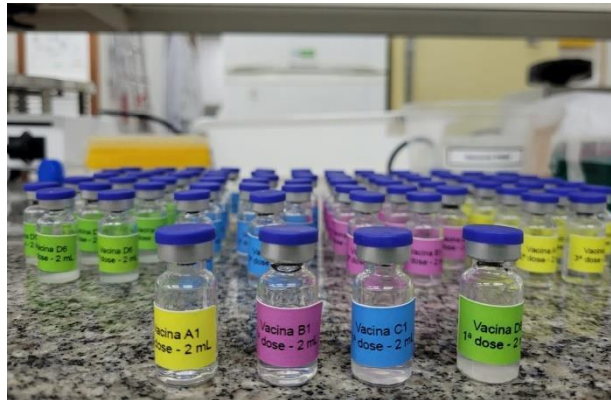


Figura 3. Formulação vacinal com proteína recombinante quimérica de *T. vivax* envasada e pronta para ser inoculada nos bovinos dos grupos experimentais.

Fonte: Autora, 2025.

4.4 Grupos experimentais

Para a realização do experimento, foram utilizados 24 bovinos, machos, raça Gir, de 2 a 5 anos de idade, com peso médio de $402,57 \pm 16,55$ kg, mantidos em piquete com disponibilidade de forragem (*Panicum maximum* e silagem de milho) e água *ad libitum*. Todos os touros foram tratados com ectoparasiticida com aplicação *pour on* a base de Cipermetrina, Clorpirifós e Butóxido de Piperonila (Insemax[®] JA Saúde Animal) durante todo o experimento.

Os animais eram negativos para *T. vivax* nos testes sorológico (IFI), parasitológico (*Buffy coat*) e molecular (PCR) nos dias D-30, D-15 e D-7 e foram divididos em quatro grupos homogêneos (n=6): Grupo Controle (GC), Grupo Adjuvante (GA), Grupo Imunizado I (GI-I) e Grupo Imunizado II (GI-II) (Tabela 1).

Tabela 1. Protocolo de tratamento e médias \pm desvios padrão do peso (kg) e da idade (anos) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA) e imunizados com 200 μ g (GI-I) ou 500 μ g (GI-II) de proteína recombinante quimérica de *Trypanosoma vivax*, analisados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Grupo (n=6)	Tratamento (2mL, via SC)	Peso (Média\pmDP)	Idade (Média\pmDP)
GC	Solução salina 0,9%	409,3 \pm 71,15 ^a	3,33 \pm 1,03 ^a
GA	Saponina 0,1% + Hidróxido de alumínio 0,2%	411,3 \pm 105,11 ^a	3,17 \pm 1,16 ^a
GI-I	200 μ g de PRqTv+ adjuvante	377,8 \pm 60,54 ^a	3,33 \pm 1,03 ^a
GI-II	500 μ g de PRqTv + adjuvante	411,83 \pm 59,27 ^a	3,33 \pm 1,03 ^a

Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa entre os grupos, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

4.5 Protocolo de imunização e desafio

As imunizações foram realizadas com aplicação de 2mL via subcutânea (SC) a cada 21 dias (D0, D21 e D42) no formato duplo cego. No D72, 30 dias após a última imunização, os animais foram desafiados com 2mL de sangue contendo 2×10^6 /mL tripomastigotas de *T. vivax* por via SC e acompanhados diariamente até o D91 e nos dias D98, D112, D126 e D147 (Figura 4).

Os animais foram avaliados em relação aos sinais clínicos, perfis hematológico, bioquímico, parasitológico e sorológico no período de imunização (D0, D21, D42) e após o desafio (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Após a inoculação de *T. vivax*, os animais foram acompanhados diariamente durante 20 dias (D72 ao D91) em relação aos sinais parasitológicos (*Buffy coat*) e clínicos. Ao final do experimento (D147), os animais foram tratados com Isometamidium (Vivedium[®] Ceva Saúde Animal) na dose de 0,5 mg/kg.

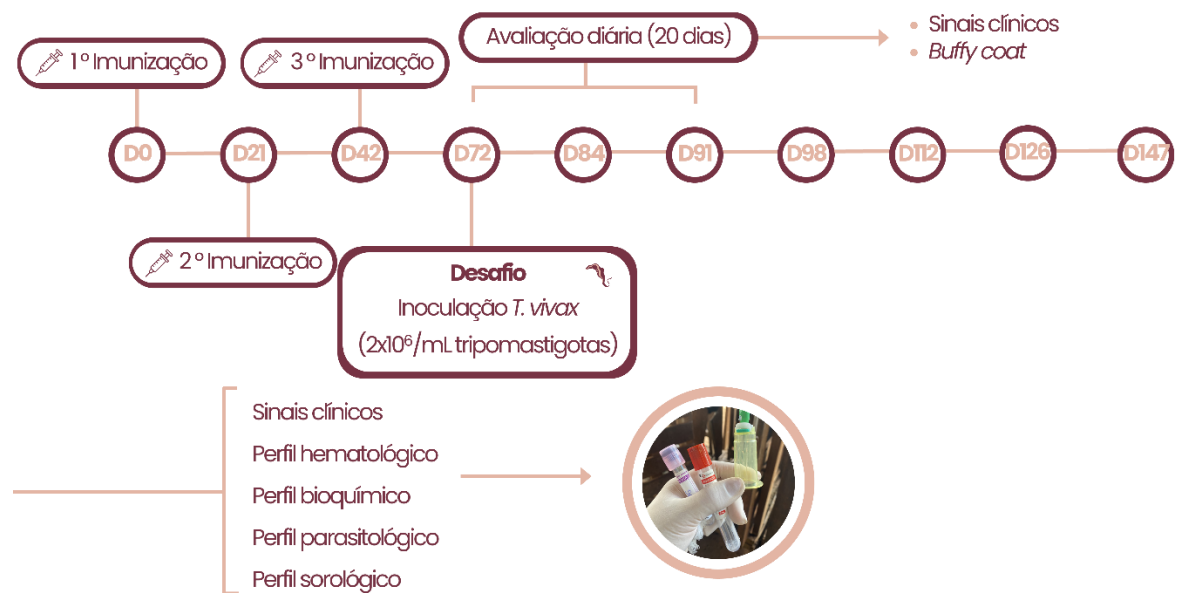


Figura 4. Cronologia da execução do experimento nos períodos de imunização e desafio dos bovinos.
Fonte: Autora, 2025.

4.6 Avaliação da segurança clínica

Para avaliação da segurança clínica das composições vacinais observou-se o local da imunização, frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), escore de condição corporal (ECC) e temperatura retal (TR) durante a imunização (D0, D21 e D42) e após o desafio (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147).

A avaliação do efeito local da aplicação da vacina foi realizada observando dor no local de aplicação, edema e eritema (European Medicines Agency, 2008). As avaliações de frequência cardíaca, respiratória e temperatura retal foram realizadas segundo Radostits et al. (2007). A frequência cardíaca normal para bovinos varia entre 40 e 80 batimentos por minuto (bpm), a frequência respiratória entre 10 e 30 movimentos respiratórios por minuto (mpm) e a temperatura retal de 38,0°C a 39,5°C. Para avaliação visual do escore da condição corporal (ECC) utilizou-se a escala de 1 a 5 (1= muito magro; 2= magro; 3= moderado/ideal; 4= gordo; 5= muito gordo), com intervalo de 0,5 pontos (Edmonson et al., 1989).

4.7 Avaliação parasitológica (*Buffy coat*)

As avaliações parasitológicas foram realizadas pela técnica de *Buffy coat* para observação de tripomastigotas (Murray, 1977). Para isso, foram colhidos 4 mL de amostras de sangue por punção da veia jugular de cada animal em tubos à vácuo (k3 Vacuete[®]) com anticoagulante (EDTA) e conservadas em gelo reciclável até o processamento das amostras.

A técnica consistiu no preenchimento de tubos capilares de vidro com amostras de sangue com anticoagulante, seguido de centrifugação a 10.000 g por cinco minutos (Centrífuga Centrilab[®] Spimplus). Em seguida, foi preparado um esfregaço sanguíneo da papa leucocitária (fração entre o plasma e a camada leucocitária), obtido após a quebra do tubo capilar nessa região.

O esfregaço foi corado com o corante Panótico Rápido (Laborclin[®]) e analisado em microscopia óptica com aumento de 1000x (Microscópio NIKON[®] Eclipse Si), permitindo a observação e contagem de tripomastigotas em dez campos.

4.8 Perfil hematológico

Para as avaliações hematológicas foram colhidos 4 mL de amostras de sangue por punção da veia jugular de cada animal em tubos à vácuo (k3 Vacuete[®]) com anticoagulante (EDTA), conservadas em gelo reciclável e processadas em até duas horas após a coleta.

As avaliações de hemácias, hemoglobina, hematócrito e leucócitos totais, foram realizadas por meio do analisador hematológico automático veterinário (Maxcell[®] 500D vet). O diferencial de leucócitos foi realizado a partir de esfregaços sanguíneos corados com Panótico Rápido (Laborclin[®]) e leitura em microscópio óptico (Nikon[®] Eclipse Si) no aumento de 100x.

4.9 Perfil bioquímico

Para as análises do perfil bioquímico, foram colhidos 4 mL de sangue por punção da veia jugular em tubos à vácuo (Vacuete[®]) sem anticoagulante para obtenção dos soros por centrifugação (centrífuga Celm[®] combate) em velocidade de 10.000g por 10 minutos a T.A (temperatura ambiente). Os soros foram aliquotados e acondicionados em microtubos de 2,5 mL tipo eppendorf devidamente identificados e mantidos em temperatura de -20°C para realização dos exames bioquímicos.

Os exames bioquímicos, incluindo alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), creatina quinase (CK), creatinina, ureia, glicose, proteína e albumina, foram obtidos por meio do analisador automático bioquímico (Audmax Evolution – LabTest[®]), utilizando os kits Labtest e seguindo as recomendações do fabricante.

4.10 Perfil sorológico

A detecção de anticorpos (IgG) anti-*T. vivax*, foi realizada conforme metodologia descrita por Frange (2013) e Gomes (2025). As lâminas previamente sensibilizadas com antígenos foram imersas em PBS (pH 7,2) por dez minutos, após secagem em estufa a 37°C por cinco minutos, foram marcadas com esmalte para delimitação dos poços e 20 µL dos soros positivo, negativo e teste diluídos em PBS (1:80) foram adicionados a cada poço. As lâminas foram incubadas em câmara úmida, em estufa a 37°C por 30 minutos. Após a incubação, as lâminas foram submersas por dez minutos em tampão FA (Fluorescent Antibody buffer, 25 mM Na₂CO₃, 100 mM NaHCO₃ e 35 mM NaCl; pH 9,0) (Ness et al, 2014), seguido de imersão em PBS por dez minutos e secagem em estufa a 37°C.

Posteriormente, o anticorpo anti-IgG bovino conjugado com FITC (Sigma F7887), foi diluído em PBS (1:500) e distribuído nas lâminas. Após a segunda incubação das lâminas em câmara úmida, em estufa a 37°C por 30 minutos, as lâminas foram lavadas, secas em estufa a 37°C e cobertas com lamínulas, utilizando glicerina tamponada (pH 9,6) (Glicerina 90%, Na₂CO₃ 0,5mM, NaHCO₃ 0,5mM). A leitura foi realizada em microscópio (EVOS) (APQ-01203-23), com aumento de 400x. Considerados resultados positivos aqueles em que fluorescência (verde) em toda a periferia das tripomastigotas em pelo menos 50% do campo, enquanto nos negativos os parasitos eram visíveis, mas sem fluorescência.

4.11 Análise estatística

Os resultados obtidos foram tabulados e organizados em gráficos através dos softwares R e GraphPad Prism.

O critério de separação dos animais em grupos homogêneos ocorreu com base no peso dos animais, utilizando análise de variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla de Tukey

Os parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos foram analisados no período de imunização (D0, D21 e D42) e desafio (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147) pelo teste paramétrico de análise de variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla *post hoc* de Tukey. Letras distintas foram atribuídas aos tempos com diferenças significativas, enquanto tempos sem diferenças receberam letras iguais. As análises foram conduzidas no software R (R Core Team, 2025).

Para a análise da parasitemia, considerando que os dados não apresentaram distribuição normal (não paramétricos) e a presença de superdispersão associada aos dias em

que os animais não apresentavam parasitos, foi utilizado um modelo linear generalizado misto com distribuição binomial negativa com inflação de zeros (ZINB – Zero-Inflated Negative Binomial) para avaliar a parasitemia ao longo do tempo dentro de cada grupo experimental. As comparações entre os grupos foram realizadas a partir das médias marginais estimadas (Estimated Marginal Means – EMMs), considerando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 Imunização

Em relação à inspeção do local onde foi feita a aplicação das vacinas nos bovinos, não foram observadas alterações cutâneas, como edema, eritema, formação de nódulos, abscessos, feridas, ou a presença de dor em nenhum dos animais.

Durante o período de imunização, a frequência cardíaca (FC) dos animais dos grupos experimentais manteve-se dentro dos parâmetros de referência, exceto no grupo GC no D0, em que foi observado aumento ($82,67 \pm 27,20$) (Tabela 2). As frequências respiratórias (FR) no D0 também estavam acima dos valores de referência nos grupos GC ($31,33 \pm 3,01$), GI-I ($35,33 \pm 13,95$) e GI-II ($31,33 \pm 6,88$) (Tabela 2). Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nas médias de FC e FR entre os dias de imunização, nem entre os grupos (Tabela 2).

O escore de condição corporal (ECC) de todos os grupos no D0 estava entre 3,50 a 4,00 e reduziu até o D42, sendo significativo ($p < 0,05$) nos grupos GC ($2,75 \pm 0,27$) e GI-II ($2,92 \pm 0,20$). Não se observou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos (Tabela 2).

As medições da temperatura retal (TR) foram significativamente ($p < 0,05$) mais altas nos grupos GC ($37,92 \pm 1,31$), GI-I ($38,17 \pm 1,16$) e GI-II ($38,23 \pm 1,16$) no D0 em relação ao D21 (Tabela 2). No grupo GI-I, a média da TR estava acima dos parâmetros de referência D42 ($39,52 \pm 0,79$). Não se observou diferença significativa ($p > 0,05$) entre grupos (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e escore de condição corporal (ECC) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os dados estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D0	D21	D42	Valor de referência ⁽¹⁾
FC				
GC	82,67 \pm 27,21 ^{Aa}	60,67 \pm 5,89 ^{Aa}	67,33 \pm 3,01 ^{Aa}	40 – 80 (bpm)
GA	72,67 \pm 10,56 ^{Aa}	66,67 \pm 9,69 ^{Aa}	70,00 \pm 2,19 ^{Aa}	
GI-I	73,67 \pm 19,61 ^{Aa}	66,67 \pm 3,27 ^{Aa}	64,67 \pm 10,86 ^{Aa}	
GI-II	66,00 \pm 8,29 ^{Aa}	65,33 \pm 8,26 ^{Aa}	65,33 \pm 5,47 ^{Aa}	
FR				
GC	31,33 \pm 3,02 ^{Aa}	28,00 \pm 4,38 ^{Aa}	28,00 \pm 5,66 ^{Aa}	10 – 30 (rpm)
GA	25,33 \pm 5,47 ^{Aa}	26,67 \pm 4,84 ^{Aa}	25,50 \pm 3,21 ^{Aa}	
GI-I	35,33 \pm 13,95 ^{Aa}	32,00 \pm 8,00 ^{Aa}	27,33 \pm 5,32 ^{Aa}	
GI-II	31,33 \pm 6,89 ^{Aa}	28,67 \pm 1,63 ^{Aa}	26,67 \pm 4,84 ^{Aa}	
ECC				
GC	3,50 \pm 0,71 ^{Aa}	2,92 \pm 0,38 ^{Ba}	2,75 \pm 0,27 ^{Ba}	3 – 4
GA	4,00 \pm 0,00 ^{Aa}	3,08 \pm 0,20 ^{Aa}	3,08 \pm 0,49 ^{Aa}	
GI-I	4,00 \pm 0,00 ^{Aa}	3,00 \pm 0,4 ^{Aa}	3,00 \pm 0,20 ^{Aa}	
GI-II	3,50 \pm 0,58 ^{Aa}	3,17 \pm 0,41 ^{ABa}	2,92 \pm 0,20 ^{Ba}	
TR				
GC	37,92 \pm 1,31 ^{Aa}	36,10 \pm 0,26 ^{Ba}	38,92 \pm 1,50 ^{Aa}	38 – 39,5 (°C)
GA	37,15 \pm 0,86 ^{Aa}	36,15 \pm 0,17 ^{Aa}	38,90 \pm 0,98 ^{Ba}	
GI-I	38,17 \pm 1,16 ^{Aa}	36,32 \pm 0,71 ^{Ba}	39,52 \pm 0,79 ^{Ca}	
GI-II	38,23 \pm 1,16 ^{Aa}	36,08 \pm 0,35 ^{Ba}	38,58 \pm 0,76 ^{Aa}	

Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, e letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al. (2007); Edmonson et al. (1989).

Fonte: Autora, 2025.

Durante o período de imunização, não foram observadas formas tripomastigotas de *T. vivax* nos grupos experimentais.

O perfil eritrocitário (hemácias, hemoglobina e hematócrito) dos animais dos grupos experimentais GA, GI-I e GI-II se manteve dentro dos valores de referência (Tabela 3). Porém a contagem de hemácias do GC estava abaixo do valor de referência nos dias D0 (6,15 \pm 0,47) e D42 (6,48 \pm 0,99), mas sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais (Tabela 3). Também não se observou sinal clínico de anemia nos animais, todos permaneceram hígidos durante todo o período de imunização (Tabela 3).

Em relação ao perfil leucocitário durante a imunização, notou-se leucocitose em todos os grupos experimentais no D0 (GC: 12566,67 \pm 3052,65; GA: 13100 \pm 2666,83; GI-I: 12833,33 \pm 3559,03; GI-II: 16250 \pm 2050,12) e no D21 (GC: 12683,33 \pm 3099,30, GI-I: 12233,33 \pm 2268,63 e GI-II: 15833,33 \pm 2897,36) (Tabela 3). Normalidade leucocitária dos

animais dos grupos experimentais somente foi notada no D42, sendo observada redução significativa no GI-II ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Neutrofilia foi observada nos grupos GC ($4031,5 \pm 2241,37$) e GI-II ($5023,5 \pm 1235,98$) no D0. No D21, esta condição permaneceu em ambos os grupos sendo também observada no GA ($4698,33 \pm 1070,22$) (Tabela 3).

Nos grupos GA ($8219 \pm 2268,36$), GI-I ($8284,83 \pm 2870,60$) e GI-II ($8275,5 \pm 2708,04$), linfocitose foi observada no D0 e permaneceu nos grupos GI-I (D21: $8285,83 \pm 2349,10$; D42: $7781,83 \pm 2091,33$) e GI-II (D21: $8677,83 \pm 1616,90$; D42: $7757,66 \pm 1148,67$) nos D21 e D42 (Tabela 3).

Em relação aos monócitos, não se notou alteração em relação aos valores descritos na literatura durante a imunização, porém elevação significativa ($p < 0,05$) foi observada no GI-I ($809,5 \pm 150,28$) no D42 (Tabela 3).

Tabela 3. Contagem de hemácias (He), dosagem de hemoglobina (Hg), percentual de hematócrito (Ht), contagem leucócitos totais (leuc), neutrófilos (neut), linfócitos (linf) e monócitos (mon) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D0	D21	D42	Valor de referência ⁽¹⁾
He				
GC	6.15 \pm 0,47 ^{Aa}	6.92 \pm 0,89 ^{Ba}	6.48 \pm 0,99 ^{ABa}	
GA	6.85 \pm 0,62 ^{Aa}	6.72 \pm 0,81 ^{Aa}	6.93 \pm 0,41 ^{Aa}	6,63 - 8,81
GI-I	6.88 \pm 0,56 ^{Aa}	7.22 \pm 0,47 ^{Aa}	7.19 \pm 0,53 ^{Aa}	($\times 10^6/\text{mm}^3$).
GI-II	6.64 \pm 0,29 ^{Aa}	6.95 \pm 0,31 ^{Aa}	6.97 \pm 0,60 ^{Aa}	
Hg				
GC	9.47 \pm 0,90 ^{Aa}	10.6 \pm 0,89 ^{Aa}	9.97 \pm 0,99 ^{Aa}	
GA	9.87 \pm 0,74 ^{Aa}	10.77 \pm 1,05 ^{ABa}	11.08 \pm 1,19 ^{Ba}	8,69 - 12,29 (g/dl)
GI-I	10.17 \pm 1,01 ^{Aa}	10.42 \pm 0,63 ^{ABa}	11.35 \pm 0,99 ^{Ba}	
GI-II	9.95 \pm 0,38 ^{Aa}	10.57 \pm 0,43 ^{Ba}	11.43 \pm 0,69 ^{Ca}	
Ht				
GC	27.92 \pm 2,39 ^{Aa}	31.87 \pm 4,38 ^{Ba}	29.25 \pm 3,78 ^{ABa}	
GA	29.72 \pm 2,57 ^{Aa}	31.48 \pm 2,23 ^{ABa}	33.93 \pm 3,86 ^{Ba}	26 – 38 (%)
GI-I	29.93 \pm 3,10 ^{Aa}	31,07 \pm 2,21 ^{ABa}	33,75 \pm 2,79 ^{Ba}	
GI-II	28,70 \pm 1,37 ^{Aa}	30,52 \pm 0,77 ^{Aa}	33,65 \pm 2,32 ^{Ba}	
Leuc				
GC	12566,67 \pm 3052,65 ^{Aa}	12683,33 \pm 3099,30 ^{Aa}	10300 \pm 2771,28 ^{Aa}	
GA	13100 \pm 2666,83 ^{Aa}	11276,67 \pm 3474,83 ^{Aa}	10350 \pm 2660,64 ^{Aa}	4000 -12000
GI-I	12833,33 \pm 3559,03 ^{Aa}	12233,33 \pm 2268,63 ^{Aa}	11950 \pm 2320,99 ^{Aa}	(/mm ³)
GI-II	16250 \pm 2050,12 ^{Aa}	15833,33 \pm 2897,36 ^{Aa}	11283,33 \pm 1146,15 ^{Ba}	
Neut				
GC	4031,5 \pm 2241,37 ^{Aa}	4223,67 \pm 1418,69 ^{Aa}	2609,17 \pm 520,66 ^{Aa}	
GA	3455,33 \pm 1101,2 ^{ABa}	4698,33 \pm 1070,22 ^{Aa}	2501 \pm 440,89 ^{Ba}	600 – 4000
GI-I	3188 \pm 1995,89 ^{Aa}	3347,5 \pm 757,24 ^{Aa}	3034,33 \pm 1308,93 ^{Aa}	(/mm ³)
GI-II	5023,5 \pm 1235,98 ^{ABa}	5360,17 \pm 2086,74 ^{Aa}	2700,67 \pm 989,44 ^{Ba}	
Linf				
GC	7002,5 \pm 2375,86 ^{Aa}	7227,5 \pm 2150,04 ^{Aa}	6699,33 \pm 2235,28 ^{Aa}	
GA	8219 \pm 2268,36 ^{Aa}	6131,16 \pm 3167,82 ^{Aa}	6896 \pm 2774,83 ^{Aa}	2500-7500 (/mm ³)
GI-I	8284,83 \pm 2870,60 ^{Aa}	8285,83 \pm 2349,10 ^{Aa}	7781,83 \pm 2091,33 ^{Aa}	
GI-II	8275,5 \pm 2708,04 ^{Aa}	8677,83 \pm 1616,90 ^{Aa}	7757,66 \pm 1148,67 ^{Aa}	
Mon				
GC	341 \pm 168,21 ^{Aa}	271,66 \pm 176,07 ^{Aa}	355,83 \pm 211,16 ^{Aa}	
GA	268,33 \pm 131,38 ^{Aa}	289,5 \pm 230,20 ^{Aa}	458,5 \pm 122,97 ^{Aa}	25 – 840 (/mm ³)
GI-I	317,33 \pm 96,56 ^{Aa}	191,16 \pm 96,20 ^{Aa}	809,5 \pm 150,28 ^{Bb}	
GI-II	540,16 \pm 448,03 ^{Aa}	391 \pm 178,23 ^{Aa}	482 \pm 241,91 ^{Aa}	

Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, e letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al. (2007); Edmonson et al. (1989).

Fonte: Autora, 2025.

Analisando o perfil hepato-biliar notou-se que os valores séricos de ALT dos animais dos grupos GA (51,83 \pm 10,18) e GI-II (55,16 \pm 15,61), apresentaram-se significativamente superiores ($p < 0,005$) no D42 (Tabela 4). Diferença significativa entre os grupos experimentais não foi observada (Tabela 4).

As dosagens de AST dos grupos GC, GA e GI-I permaneceram dentro dos valores de referência (Tabela 4). No grupo GI-II observou-se redução significativa ($77,33 \pm 7,76$) no D21 ($p < 0,05$) (Tabela 4).

As dosagens de CK estavam dentro dos valores de referência durante todo o período de imunização (Tabela 4)

Observou-se que as médias de proteína total (PT) estavam abaixo dos valores de referência nos grupos GA ($5,93 \pm 1,08$) e GI-I ($6,16 \pm 1,18$) no D0, e nos grupos GA ($6,35 \pm 0,48$), GI-I ($6,13 \pm 0,42$) e GI-II ($6,47 \pm 0,46$) no D21 (Tabela 4). No D42, as médias de PT estiveram acima dos parâmetros de referência nos grupos GI-I ($7,49 \pm 0,33$) e GI-II ($7,76 \pm 0,33$), sendo significativamente maiores ($p < 0,05$) no GI-II em relação ao GC ($7,14 \pm 0,31$) (Tabela 4).

As médias de albumina estavam abaixo dos valores de referência nos D0 (GC: $2,80 \pm 0,50$; GA: $2,34 \pm 0,36$; GI-I: $2,40 \pm 0,50$; GI-II: $2,78 \pm 0,33$) e D21 (GC: $2,70 \pm 0,29$; GA: $2,65 \pm 0,25$; GI-I: $2,54 \pm 0,26$; GI-II: $2,57 \pm 0,26$) em todos os grupos experimentais, e aumentaram significativamente no D42 nos grupos GA ($3,17 \pm 0,11$), GI-I ($3,21 \pm 0,18$) e GI-II ($3,32 \pm 0,23$) (Tabela 4). A média do grupo GC ($2,91 \pm 0,34$) permaneceu abaixo dos valores de referência no D42 e foi significativamente menor à do GI-II (Tabela 4).

O grupo GI-II apresentou globulina acima dos valores de referência durante todo o período de imunização (Tabela 4). No D21, o GC também apresentou resultado acima do valor de referência e no D42, em todos os grupos a globulina estava aumentada (Tabela 4).

No período da imunização, as dosagens de bilirrubina total (BT) e bilirrubina indireta (BI) se mantiveram dentro dos valores de referência em todos os grupos (Tabela 5). A dosagem de bilirrubina direta (BD) foi abaixo dos valores de referência nos grupos GC, GA, GI-I e GI-II em todos os momentos da imunização (Tabela 5).

Tabela 4. Dosagem de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), proteínas totais (PT), albumina (Alb) e globulina (Glob) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D0	D21	D42	Valores de referência ⁽¹⁾
ALT				
GC	45,30 \pm 11,20 ^{Aa}	40,33 \pm 8,04 ^{Aa}	43,16 \pm 4,53 ^{Aa}	10 - 50 (U/L)
GA	38,33 \pm 5 ^{Aa}	46 \pm 7,64 ^{ABa}	51,83 \pm 10,18 ^{Ba}	
GI-I	41,33 \pm 11,48 ^{Aa}	37,66 \pm 5,54 ^{Aa}	45,66 \pm 6,08 ^{Aa}	
GI-II	49,16 \pm 7,83 ^{ABa}	43 \pm 10,58 ^{Aa}	55,16 \pm 15,61 ^{Ba}	
AST				
GC	93,50 \pm 16,40 ^{Aa}	85,00 \pm 8,27 ^{Aa}	86,00 \pm 18,32 ^{Aa}	78-132 (U/L)
GA	78,5 \pm 10,09 ^{Aa}	82,66 \pm 10,46 ^{Aa}	104,00 \pm 22,08 ^{Ba}	
GI-I	85,5 \pm 23,16 ^{Aa}	85,33 \pm 21,24 ^{Aa}	100,00 \pm 11,06 ^{Aa}	
GI-II	96,33 \pm 7,17 ^{Aa}	77,33 \pm 7,76 ^{Ba}	100,00 \pm 9,27 ^{Aa}	
GGT				
GC	16,20 \pm 6,80 ^A	19,66 \pm 3,88 ^{Aa}	18,16 \pm 3,54 ^{Aa}	10 - 35 (U/L)
GA	11,00 \pm 2,09 ^A	14,33 \pm 2,58 ^{Bb}	16,00 \pm 1,09 ^{Ba}	
GI-I	10,66 \pm 5,20 ^A	14,5 \pm 3,27 ^{ABb}	18,66 \pm 4,68 ^{Ba}	
GI-II	12,83 \pm 3,31 ^A	15,66 \pm 2,34 ^{ABab}	16,50 \pm 3,78 ^{Ba}	
FA				
GC	242,70 \pm 44,50 ^{Aa}	186,33 \pm 37,81 ^{Ba}	180,00 \pm 51,09 ^{Ba}	0-488(U/L)
GA	238,33 \pm 79,12 ^{Aa}	225,66 \pm 67,86 ^{ABa}	196,66 \pm 49,18 ^{Ba}	
GI-I	213,66 \pm 57,28 ^{Aa}	205,66 \pm 25,07 ^{Aa}	188,33 \pm 40,28 ^{Aa}	
GI-II	250,74 \pm 155,63 ^{Aa}	223,66 \pm 57,02 ^{Aa}	222,5 \pm 65,78 ^{Aa}	
CK				
GC	47,33 \pm 11,99 ^{Aa}	38,83 \pm 9,02 ^{Aa}	41,66 \pm 16,31 ^{Aa}	< 94 (U/L)
GA	51,83 \pm 27,52 ^{Aa}	49,00 \pm 15,09 ^{Aa}	34,33 \pm 14,47 ^{Aa}	
GI-I	49,00 \pm 16,21 ^{Aa}	42,66 \pm 14,54 ^{Aa}	54,33 \pm 72,92 ^{Aa}	
GI-II	51 \pm 20,63 ^{Aa}	42,83 \pm 8,56 ^{Aa}	53 \pm 28,16 ^{Aa}	
PT				
GC	7,50 \pm 1,18 ^{Aa}	6,92 \pm 0,68 ^{Aa}	7,14 \pm 0,31 ^{Aa}	6,74-7,46 (g/dL)
GA	5,93 \pm 1,08 ^{Ab}	6,35 \pm 0,48 ^{Aa}	7,35 \pm 0,28 ^{Bab}	
GI-I	6,16 \pm 1,18 ^{Ab}	6,13 \pm 0,42 ^{Aa}	7,49 \pm 0,33 ^{Bab}	
GI-II	7,26 \pm 0,59 ^{Ab}	6,47 \pm 0,46 ^{Ba}	7,76 \pm 0,33 ^{Cb}	
Alb				
GC	2,80 \pm 0,50 ^{Aa}	2,70 \pm 0,29 ^{Aa}	2,91 \pm 0,34 ^{Aa}	3,0-3,5 (g/dL)
GA	2,34 \pm 0,36 ^{Aa}	2,65 \pm 0,25 ^{Aa}	3,17 \pm 0,11 ^{Bab}	
GI-I	2,40 \pm 0,50 ^{Aa}	2,54 \pm 0,26 ^{Aa}	3,21 \pm 0,18 ^{Bab}	
GI-II	2,78 \pm 0,33 ^{Aa}	2,57 \pm 0,26 ^{Ba}	3,32 \pm 0,23 ^{Cb}	
Glob				
GC	3.74 \pm 0.69 ^{Aa}	4.20 \pm 0.56 ^{Aa}	4.22 \pm 0.25 ^{Aa}	3,0-3,8 (g/dL)
GA	3.60 \pm 0.74 ^{Aa}	3.70 \pm 0.30 ^{Aa}	4.18 \pm 0.32 ^{Aa}	
GI-I	3.74 \pm 0.69 ^{ABa}	3.59 \pm 0.22 ^{Aa}	4.28 \pm 0.20 ^{Ba}	
GI-II	4.48 \pm 0.39 ^{Aa}	3.90 \pm 0.42 ^{Aa}	4.44 \pm 0.32 ^{Aa}	

Médias \pm desvios padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

Tabela 5. Dosagem de bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D0	D21	D42	Valores de referência ⁽¹⁾
BT				
GC	0,12 \pm 0,06 ^{Aa}	0,12 \pm 0,04 ^{Aa}	0,09 \pm 0,04 ^{Aa}	0,01-0,5 (mg/dL)
GA	0,10 \pm 0,06 ^{Aa}	0,09 \pm 0,02 ^{Aa}	0,09 \pm 0,03 ^{Aa}	
GI-I	0,12 \pm 0,06 ^{Aa}	0,10 \pm 0,04 ^{Aa}	0,12 \pm 0,04 ^{Aa}	
GI-II	0,09 \pm 0,04 ^{Aa}	0,11 \pm 0,04 ^{Aa}	0,07 \pm 0,03 ^{Aa}	
BD				
GC	0,02 \pm 0,01 ^{Aa}	0,02 \pm 0,00 ^{Aa}	0,03 \pm 0,01 ^{Aa}	0,04-0,44 (mg/dL)
GA	0,01 \pm 0,01 ^{Aa}	0,02 \pm 0,01 ^{ABa}	0,03 \pm 0,00 ^{Ba}	
GI-I	0,01 \pm 0,01 ^{Aa}	0,02 \pm 0,01 ^{Aa}	0,03 \pm 0,01 ^{Aa}	
GI-II	0,01 \pm 0,01 ^{Aa}	0,02 \pm 0,01 ^{Aa}	0,02 \pm 0,01 ^{Aa}	
BI				
GC	0,10 \pm 0,03 ^{Aa}	0,10 \pm 0,04 ^{ABa}	0,06 \pm 0,03 ^{Ba}	0,0-0,30 (mg/dL)
GA	0,09 \pm 0,06 ^{Aa}	0,07 \pm 0,02 ^{Aa}	0,06 \pm 0,03 ^{Aa}	
GI-I	0,11 \pm 0,06 ^{Aa}	0,07 \pm 0,05 ^{Aa}	0,09 \pm 0,03 ^{Aa}	
GI-II	0,07 \pm 0,04 ^{Aa}	0,09 \pm 0,04 ^{Aa}	0,05 \pm 0,4 ^{Aa}	

Médias \pm desvio padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

As dosagens de creatinina estavam dentro dos valores de referência em todos os grupos durante a imunização (Tabela 6). As médias de ureia estavam abaixo dos valores de referência nos grupos GA (8,83 \pm 1,60) e GI-I (9,00 \pm 3,03) no D0 e aumentaram significativamente ($p < 0,05$) no D42 (GA: 13,50 \pm 1,87; GI-I: 13,33 \pm 3,01) (Tabela 6).

As médias de glicemia de todos os grupos se mantiveram dentro dos parâmetros de referência (Tabela 6).

Tabela 6. Dosagem de creatinina (Creat), ureia e glicose dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e foram analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D0	D21	D42	Valores de referência ⁽¹⁾
Creat				
GC	1,50 \pm 0,20 ^{Aa}	1,62 \pm 0,36 ^{Aa}	1,66 \pm 0,32 ^{Aa}	1-2 (mg/dL)
GA	1,20 \pm 0,24 ^{Aa}	1,50 \pm 0,16 ^{Ba}	1,82 \pm 0,18 ^{Ca}	
GI-I	1,23 \pm 0,38 ^{Aa}	1,46 \pm 0,18 ^{Aa}	1,84 \pm 0,20 ^{Ba}	
GI-II	1,55 \pm 0,14 ^{Aa}	1,55 \pm 0,16 ^{Aa}	1,79 \pm 0,18 ^{Ba}	
Ureia				
GC	12,50 \pm 3,70 ^{Aa}	13,30 \pm 5,8 ^{Aa}	14,67 \pm 4,59 ^{Aa}	10-25 (mg/dL)
GA	8,83 \pm 1,60 ^{Aa}	9,80 \pm 2,70 ^{Aa}	13,50 \pm 1,87 ^{Ba}	
GI-I	9,00 \pm 3,03 ^{Aa}	9,70 \pm 1,40 ^{Aa}	13,33 \pm 3,01 ^{Ba}	
GI-II	11,50 \pm 3,45 ^{ABa}	10,30 \pm 1,80 ^{Aa}	14,67 \pm 3,33 ^{Ba}	
Glicose				
GC	63,80 \pm 7,09 ^{ABa}	56,33 \pm 6,62 ^{Aa}	69,33 \pm 5,82 ^{Ba}	45-75
GA	52,66 \pm 9,11 ^{Aa}	52,20 \pm 8,93 ^{Aa}	68,67 \pm 2,80 ^{Ba}	
GI-I	54,5 \pm 7,09 ^{Aa}	54,83 \pm 6,01 ^{Aa}	68,83 \pm 4,40 ^{Ba}	
GI-II	61,5 \pm 7,31 ^{Aa}	49,33 \pm 4,08 ^{Ba}	66,67 \pm 3,72 ^{Aa}	

Médias \pm desvios padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

Não foram detectados anticorpos IgG anti-*T. vivax* pela técnica de imunofluorescência indireta nos grupos experimentais durante esse período.

5.2 Desafio

Formas tripomastigotas de *T. vivax* (média \pm dp) foram detectadas nos esfregaços (*Buffy Coat*) a partir do 8º dpi (D80), com pico de parasitemia no 12º dpi (D84) nos grupos GC (109,83 \pm 116,50) e GA (213,83 \pm 49,62), e no 13º dpi (D85) no GI-I (153,67 \pm 133,92) e GI-II (173,50 \pm 117,63) (Figura 5). Não foi observada nenhuma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos durante o pico de parasitemia (Tabela 7). Tripomastigotas foram observadas nos Grupos GA e GI-II até o D112 e nos GC e GI-I até o D126 (Figura 5). No D147 nenhum animal apresentou tripomastigotas circulantes (Figura 5).

Tabela 7. Parasitemia dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, 21 e D42) e desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais.

	GC	GA	GI-I	GI-II
D0	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D21	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D42	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D72	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D73	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D74	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D75	0,17 \pm 0,41 ^{AB}	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D76	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D77	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D78	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D79	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
D80	1,00 \pm 1,55 ^{ABa}	0,33 \pm 0,82 ^{Aa}	0,83 \pm 1,33 ^{Aa}	1,33 \pm 1,51 ^{Aa}
D81	2,00 \pm 2,45 ^{ABa}	0,67 \pm 1,03 ^{Aa}	4,33 \pm 4,68 ^{ABCa}	3,67 \pm 5,24 ^{ABa}
D82	20,17 \pm 11,44 ^{CDa}	12,17 \pm 6,24 ^{Ba}	24,83 \pm 19,85 ^{CDEa}	29,50 \pm 17,76 ^{CDa}
D83	50,50 \pm 48,54 ^{DEFa}	21,00 \pm 8,81 ^{BCa}	28,33 \pm 16,87 ^{DEa}	48,33 \pm 35,16 ^{DEFa}
D84	109,83 \pm 116,50 ^{Fa}	213,83 \pm 49,62 ^{Ea}	101,50 \pm 105,30 ^{EFa}	135,50 \pm 111,24 ^{EFa}
D85	60,83 \pm 31,52 ^{DEFa}	100,33 \pm 69,98 ^{DEa}	153,67 \pm 133,92 ^{Fa}	173,50 \pm 117,63 ^{Fa}
D86	79,83 \pm 46,28 ^{EFa}	48,33 \pm 29,23 ^{CDa}	64,00 \pm 40,92 ^{EFa}	61,50 \pm 37,68 ^{DEFa}
D87	103,33 \pm 87,70 ^{Fa}	42,50 \pm 22,02 ^{BCDa}	55,33 \pm 72,84 ^{EFa}	61,17 \pm 60,44 ^{DEFa}
D88	23,00 \pm 14,09 ^{CDa}	56,33 \pm 43,02 ^{CDa}	36,00 \pm 21,78 ^{Ea}	19,50 \pm 17,35 ^{BCDa}
D89	7,33 \pm 11,13 ^{BCab}	30,17 \pm 11,13 ^{BCDc}	5,33 \pm 5,28 ^{ABCDa}	18,67 \pm 19,05 ^{BCDbc}
D90	19,50 \pm 21,12 ^{CDa}	18,83 \pm 19,69 ^{BCa}	18,50 \pm 24,42 ^{BCDEa}	34,17 \pm 25,07 ^{CDEa}
D91	17,50 \pm 16,53 ^{CDEa}	39,50 \pm 37,61 ^{BCDa}	35,67 \pm 16,66 ^{EFa}	19,33 \pm 29,41 ^{BCDa}
D98	6,17 \pm 6,31 ^{BCb}	1,00 \pm 1,67 ^{Aa}	4,50 \pm 3,73 ^{ABCab}	6,17 \pm 8,73 ^{ABCb}
D112	1,50 \pm 3,67 ^{ABab}	0,83 \pm 2,04 ^{Aab}	3,67 \pm 8,98 ^{ABb}	0,17 \pm 0,41 ^{Aa}
D126	0,33 \pm 0,52 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^a	0,50 \pm 0,84 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^a
D147	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00

Médias \pm desvios padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo pelo modelo ZINB, enquanto letras minúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental pelo EMMs. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme pelo teste Mann-Whitney ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Fonte: Autora, 2025.

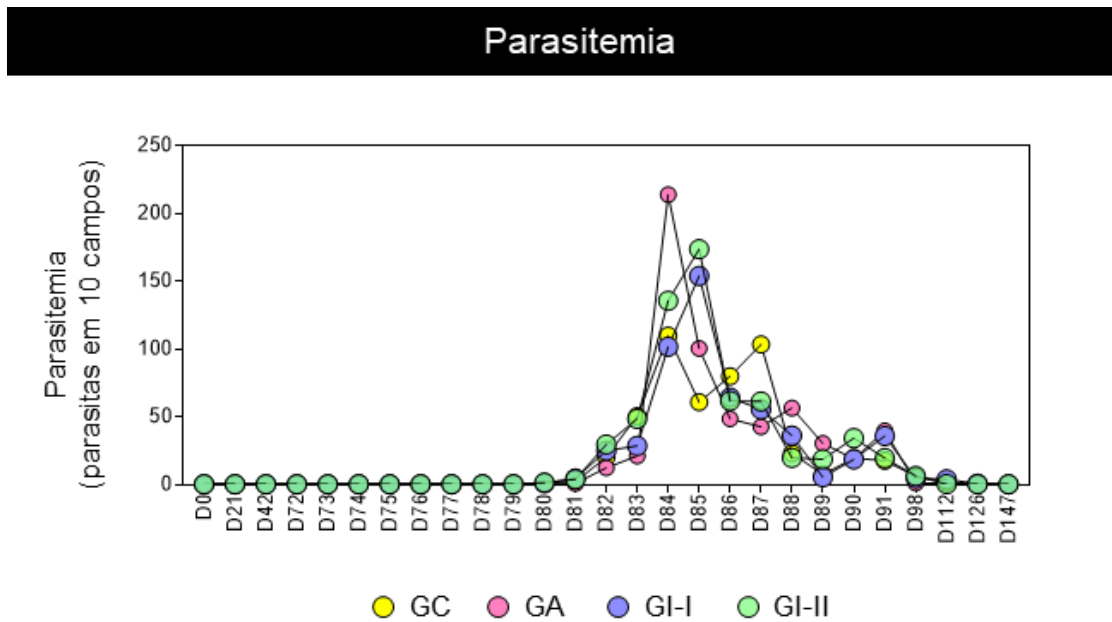


Figura 5. Média da parasitemia por *T. vivax* avaliada pelo método de *Buffy coat* (parasitas em 10 campos de microscopia óptica) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) ao longo dos dias experimentais (D0, D21, D42, D72, D73, D74, D75, D76, D77, D78, D79, D80, D81, D82, D83, D84, D85, D86, D87, D88, D89, D90, D91, D98, D112, D126 e D147). O eixo vertical representa a média da parasitemia e o eixo horizontal, os dias de avaliação durante o experimento.

Fonte: Autora, 2025.

No período pós desafio, foi observado aumento da FC no GA no D98 ($88,00 \pm 11,59$) e D112 ($84,67 \pm 21,52$), porém não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) (Figura 6A; Tabela 8). Durante o pós-desafio, as FR de todos os grupos se mantiveram dentro dos valores de referência (Figura 6B).

O ECC manteve-se entre 2 e 3 em todos os grupos, com redução significativa ($p < 0,05$) observada no grupo GI-I ($2,25 \pm 0,42$) no D98 (Figura 6C; Tabela 8).

No D84, a TR dos grupos GA ($40,90 \pm 1,25$), GI-I ($40,93 \pm 1,58$) e GI-II ($40,60 \pm 0,85$) estava acima dos valores de referência e foi significativamente superior ($p < 0,05$) ao GC ($38,20 \pm 1,05$) (Figura 6D; Tabela 8).

Tabela 8. Frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e escore de condição corporal (ECC) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D72	D84	D91	D98	D112	D126	D147	Valor de referência ⁽¹⁾
FC								
GC	64,00 \pm 10,12 ^{Aa}	77,33 \pm 16,52 ^{Aa}	79,33 \pm 14,84 ^{ABa}	72,00 \pm 15,39 ^{ABa}	66,67 \pm 13,31 ^{ABa}	64,00 \pm 20,08 ^{ABa}	59,33 \pm 14,62 ^{Ba}	40 – 80 (bpm)
GA	66,00 \pm 11,80 ^{Aa}	76,00 \pm 11,31 ^{Aa}	76,00 \pm 4,20 ^{Aa}	88,00 \pm 11,59 ^{Aa}	84,67 \pm 21,53 ^{Aa}	76,67 \pm 25,22 ^{Aa}	67,33 \pm 10,25 ^{Aa}	
GI-I	74,00 \pm 14,03 ^{Aa}	78,67 \pm 17,83 ^{Aa}	78,33 \pm 13,29 ^{Aa}	78,00 \pm 10,66 ^{Aa}	62,00 \pm 14,91 ^{Aa}	60,00 \pm 10,73 ^{Aa}	61,67 \pm 9,99 ^{Aa}	
GI-II	70,67 \pm 10,33 ^{ABa}	67,33 \pm 9,93 ^{ABa}	78,00 \pm 6,57 ^{Aa}	69,33 \pm 12,04 ^{ABa}	67,33 \pm 8,16 ^{ABa}	59,67 \pm 6,74 ^{Ba}	60,00 \pm 9,47 ^{Ba}	
FR								
GC	26,00 \pm 4,90 ^{Aa}	24,00 \pm 3,58 ^{Aa}	24,00 \pm 4,38 ^{Aa}	22,67 \pm 4,84 ^{Aa}	22,00 \pm 3,35 ^{Aa}	24,00 \pm 2,53 ^{Aa}	23,33 \pm 3,01 ^{Aa}	10 – 30 (rpm)
GA	24,00 \pm 2,53 ^{Aa}	20,00 \pm 2,53 ^{Aa}	20,67 \pm 3,01 ^{Aa}	20,67 \pm 3,01 ^{Aa}	23,33 \pm 4,68 ^{Aa}	22,67 \pm 2,07 ^{Aa}	24,00 \pm 3,58 ^{Aa}	
GI-I	25,33 \pm 6,02 ^{Aa}	24,00 \pm 4,38 ^{Aa}	26,67 \pm 3,27 ^{Aa}	22,67 \pm 3,27 ^{Aa}	24,67 \pm 1,63 ^{Aa}	23,33 \pm 3,01 ^{Aa}	24,67 \pm 3,01 ^{Aa}	
GI-II	23,33 \pm 3,93 ^{Aa}	24,00 \pm 3,58 ^{Aa}	24,00 \pm 4,38 ^{Aa}	26,00 \pm 2,19 ^{Aa}	23,33 \pm 3,01 ^{Aa}	26,67 \pm 5,47 ^{Aa}	28,00 \pm 3,58 ^{Aa}	
ECC								
GC	2,58 \pm 0,20 ^{Aa}	2,50 \pm 0,45 ^{Aa}	2,42 \pm 0,38 ^{Aa}	2,25 \pm 0,42 ^{Aa}	2,42 \pm 0,20 ^{Aa}	2,50 \pm 0,32 ^{Aa}	2,42 \pm 0,38 ^{Aa}	3 – 4
GA	2,58 \pm 0,20 ^{Aa}	2,58 \pm 0,20 ^{Aa}	2,50 \pm 0,00 ^{Aa}	2,42 \pm 0,20 ^{Aa}	2,50 \pm 0,00 ^{Aa}	2,50 \pm 0,00 ^{Aa}	2,67 \pm 0,26 ^{Aa}	
GI-I	2,83 \pm 0,41 ^{Aa}	2,50 \pm 0,45 ^{ABa}	2,58 \pm 0,20 ^{ABa}	2,25 \pm 0,42 ^{Ba}	2,33 \pm 0,26 ^{ABa}	2,67 \pm 0,52 ^{ABa}	2,67 \pm 0,26 ^{ABa}	
GI-II	2,75 \pm 0,27 ^{Aa}	2,58 \pm 0,20 ^{Aa}	2,58 \pm 0,38 ^{Aa}	2,67 \pm 0,26 ^{Aa}	2,42 \pm 0,20 ^{Aa}	2,58 \pm 0,58 ^{Aa}	2,67 \pm 0,26 ^{Aa}	
TR								
GC	39,57 \pm 1,63 ^{Aa}	38,20 \pm 1,05 ^{ABCa}	38,80 \pm 1,31 ^{ABa}	37,60 \pm 0,81 ^{BCa}	36,90 \pm 0,70 ^{Ca}	36,87 \pm 0,70 ^{Ca}	38,07 \pm 0,75 ^{ABCa}	38 – 39,5 (T°C)
GA	39,55 \pm 2,02 ^{ABa}	40,90 \pm 1,25 ^{Ab}	38,20 \pm 0,83 ^{BCa}	37,40 \pm 1,11 ^{BCa}	36,80 \pm 0,61 ^{Ca}	36,77 \pm 0,61 ^{Ca}	38,40 \pm 1,46 ^{BCa}	
GI-I	38,00 \pm 1,05 ^{Aa}	40,93 \pm 1,58 ^{Bb}	38,70 \pm 1,71 ^{Aa}	37,50 \pm 0,30 ^{Aa}	37,20 \pm 0,30 ^{Aa}	37,18 \pm 0,99 ^{Aa}	38,90 \pm 1,08 ^{ABa}	
GI-II	37,80 \pm 0,81 ^{Aa}	40,60 \pm 0,85 ^{Bb}	37,30 \pm 0,81 ^{Aa}	37,90 \pm 0,58 ^{Aa}	37,00 \pm 0,58 ^{Aa}	36,95 \pm 1,39 ^{Aa}	38,23 \pm 0,97 ^{Aa}	

Médias \pm desvio padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al. (2007); Edmonson et al. (1989)

Fonte: Autora, 2025.

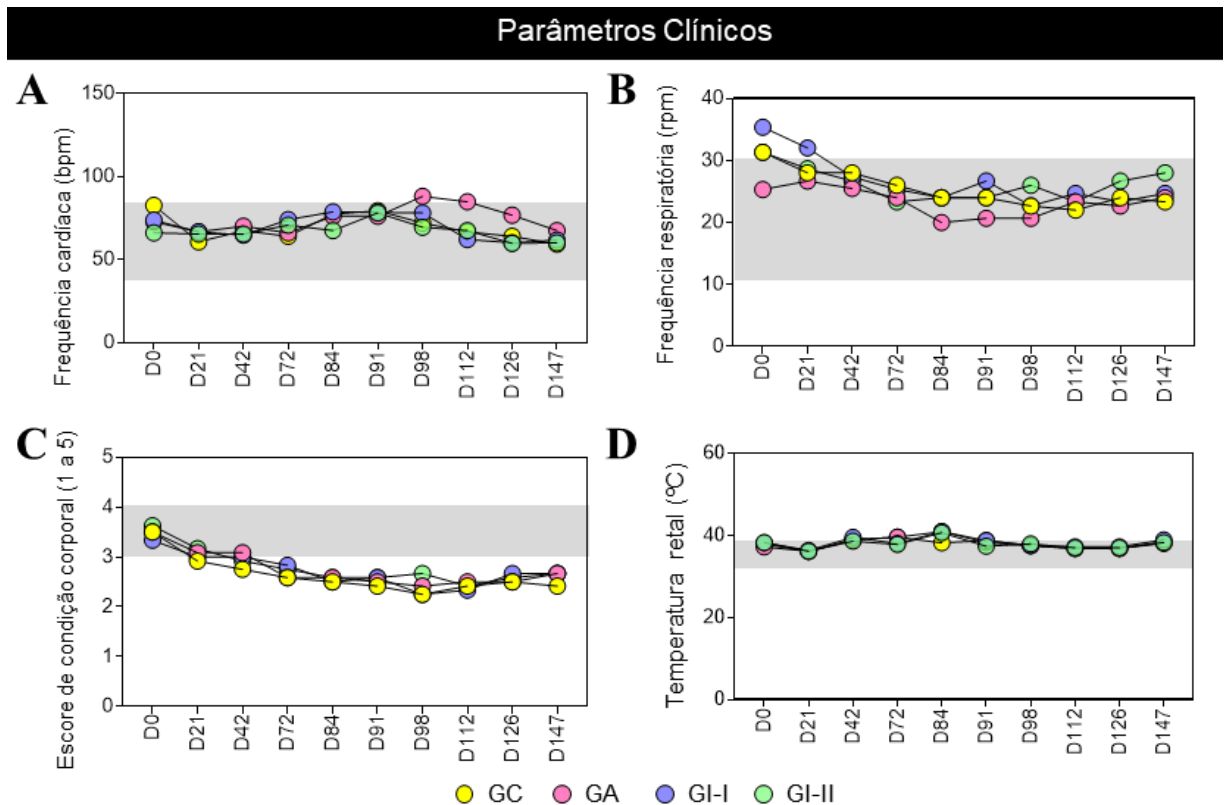


Figura 6. Parâmetros clínicos dos bovinos expressos em média da frequência cardíaca (A), frequência respiratória (b), escore de condição corporal (C) e temperatura retal (D) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) nos dias experimentais (D0, D21, D42, D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147).

*As áreas dos gráficos em cinza representam os intervalos de referência segundo Radostits et al. (2007).

Fonte: Autora, 2025.

Em relação ao perfil hematológico, nos D84, D91 e D98, notou-se redução significativa ($p < 0,05$) de He (Hemácia), Hg (Hemoglobina) e Ht (hematócrito) em todos os grupos experimentais (Tabela 9).

Foi observada anemia no D84 apenas nos grupos GC (He: $5.32 \pm 0,57$; Hg: $8.37 \pm 0,57$; Ht: $24.7 \pm 3,14$) e GA (He: $5.84 \pm 0,55$; Hg: $8.68 \pm 0,68$; Ht: $25,67 \pm 1,82$) (Figura 7A, B e C). No D91, foi observada anemia em todos os grupos, sendo que nos grupos GC e GA a média das hemácias (GC: $5.39 \pm 0,59$; GA: $5.53 \pm 0,60$), hemoglobina (GC: $8.23 \pm 0,59$; GA: $8.25 \pm 0,91$) e hematócrito (GC: $24.35 \pm 3,65$; GA: $24,88 \pm 1,72$) estavam abaixo dos valores de referência e no GI-I e GI-II apenas hemácias (GI-I: $5.81 \pm 0,50$; GI-II: $5.93 \pm 0,66$) e hematócrito (GI-I: $25,98 \pm 2,11$; GI-II: $25,70 \pm 2,82$) apresentaram valores inferiores aos parâmetros de referência. Não se observou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais (Tabela 9).

No D98 todos os grupos apresentaram média de hemácias abaixo dos valores de referência e nenhum grupo apresentou anemia (Figura 7A, B e C). No D112, os grupos GI-I e GI-II apresentaram médias de hemácias (GI-I: $6.77 \pm 0,61$; GI-II: $6.71 \pm 0,74$), hemoglobina (GI-

I: $10.42 \pm 0,80$; GI-II: $10.28 \pm 0,92$) e hematócrito (GI-I: $30,08 \pm 2,52$; GI-II: $30,57 \pm 3,32$) significativamente superior ($p < 0,05$) às médias do D91. No D147, o grupo GA voltou apresentar anemia (He: $6,00 \pm 0,40$; Ht: $25,30 \pm 2,90$) (Tabela 9).

Não foi observada nenhuma diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos em relação ao perfil eritrocitário após o desafio experimental (Tabela 9).

No período pós-desafio, observou-se redução significativa ($p < 0,05$) de leucócitos totais no D84 (GC: $5316,67 \pm 1165,19$; GA: $4616,67 \pm 1304,48$; GI-I: $6250 \pm 1321,74$; GI-II: $6583,33 \pm 1766,82$) em relação ao D72 (GC: $9783,33 \pm 2190,36$; GA: $9550 \pm 2663,64$; GI-I: $9666,67 \pm 1860,82$; GI-II: $11883,33 \pm 1544,56$) em todos os grupos (Tabela 10).

O GI-II apresentou leucocitose nos dias D112 ($14200 \pm 3200,00$), 126 ($14200,00 \pm 3200,00$) e D148 ($12083,30 \pm 2230,20$), e nos dias D112 e D126 as médias foram significativamente superiores as dos grupos GC (D112: $9616,67 \pm 1655,80$; D126: $9616,70 \pm 1655,80$) e GA (D112: $8683,33 \pm 1479,75$; D126: $8683,30 \pm 1479,80$) (Figura 7D; Tabela 10).

No D84, o GC ($1609,33 \pm 367,98$) apresentou redução significativa ($p < 0,05$) de neutrófilos, e os grupos GA ($2729,16 \pm 1263,66$), GI-I ($3556,5 \pm 999,79$) e GI-II ($4054 \pm 979,28$) apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) de linfócitos (Figura 7E e F; Tabela 10).

Durante o desafio, neutrofilia foi notada no GI-II nos momentos D72 ($4323,83 \pm 1597,09$), D98 ($4199,83 \pm 3220,08$), D112 ($5975,67 \pm 2660,23$) e D126 ($5975,70 \pm 2660,20$) (Figura 7E).

No D91, médias significativamente ($p < 0,05$) superiores de contagem de monócitos foi observada nos grupos GI-I ($472,33 \pm 370,18$) e GI-II ($561,8 \pm 119,11$) em relação aos grupos GC ($132 \pm 75,98$) e GA ($197,8 \pm 150,93$) (Tabela 10).

Tabela 9. Contagem de hemácias (He), dosagem de hemoglobina (Hg) e percentual de hematócrito (Ht) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Grupo	D72	D84	D91	D98	D112	D126	D147	Valor de referência ⁽¹⁾
He								
GC	7.15 \pm 0,75 ^{Aa}	5.32 \pm 0,57 ^{Ba}	5.39 \pm 0,59 ^{Ba}	5.98 \pm 0,86 ^{Ba}	6.05 \pm 0,69 ^{Ba}	5,80 \pm 0,48 ^{Ba}	5,70 \pm 0,72 ^{Ba}	6,63 -8,81 (x10 ⁶ /mm ³)
GA	7.61 \pm 0,57 ^{Aa}	5.84 \pm 0,55 ^{Ba}	5.53 \pm 0,60 ^{Ba}	5.74 \pm 0,65 ^{Ba}	6.13 \pm 0,32 ^{Ba}	6,30 \pm 0,40 ^{Ba}	6,00 \pm 0,40 ^{Ba}	
GI-I	7.59 \pm 0,29 ^{Aa}	6.21 \pm 0,72 ^{BCa}	5.81 \pm 0,50 ^{Ba}	6.44 \pm 0,33 ^{BCa}	6.77 \pm 0,61 ^{ACa}	6,30 \pm 0,60 ^{BCa}	6,10 \pm 0,60 ^{BCa}	
GI-II	7.74 \pm 0,45 ^{Aa}	6.13 \pm 0,49 ^{BCa}	5.93 \pm 0,66 ^{Ba}	6.07 \pm 0,82 ^{BCa}	6.71 \pm 0,74 ^{Ca}	6,60 \pm 0,80 ^{BCa}	6,50 \pm 0,80 ^{BCa}	
Hg								
GC	10.27 \pm 0,75 ^{Aa}	8.37 \pm 0,57 ^{Ba}	8.23 \pm 0,59 ^{Ba}	9.17 \pm 0,86 ^{ABa}	9.32 \pm 0,69 ^{ABa}	9,10 \pm 0,93 ^{ABa}	8,80 \pm 1,15 ^{Ba}	8,69 - 12,29 (g/dl)
GA	11.12 \pm 0,53 ^{Aa}	8.68 \pm 0,68 ^{BCa}	8.25 \pm 0,91 ^{Ba}	9.00 \pm 0,98 ^{BCa}	9.15 \pm 0,87 ^{BCa}	9,50 \pm 0,50 ^{Ca}	8,70 \pm 1,00 ^{BCa}	
GI-I	11.32 \pm 1,00 ^{Aa}	9.32 \pm 1,03 ^{Ba}	8.85 \pm 0,71 ^{Ba}	9.38 \pm 0,59 ^{BCa}	10.42 \pm 0,80 ^{ACa}	9,50 \pm 0,50 ^{BCa}	9,50 \pm 0,90 ^{BCa}	
GI-II	11.42 \pm 0,97 ^{Aa}	9.25 \pm 0,72 ^{BCa}	8.98 \pm 1,01 ^{Ba}	9.37 \pm 1,09 ^{BCa}	10.28 \pm 0,92 ^{Ca}	9,90 \pm 1,00 ^{BCa}	9,60 \pm 0,90 ^{BCa}	
Ht								
GC	31.17 \pm 3,76 ^{Aa}	24.7 \pm 3,14 ^{Ba}	24.35 \pm 3,65 ^{Ba}	27.00 \pm 4,18 ^{Ba}	27.48 \pm 4,09 ^{ABa}	26,60 \pm 2,40 ^{Ba}	26,30 \pm 3,45 ^{Ba}	26 – 38 (%)
GA	33,57 \pm 2,16 ^{Aa}	25,67 \pm 1,82 ^{Ba}	24,88 \pm 1,72 ^{Ba}	26,92 \pm 3,19 ^{Ba}	27,42 \pm 2,61 ^{Ba}	27,60 \pm 1,60 ^{Ba}	25,30 \pm 2,90 ^{Ba}	
GI-I	32,93 \pm 2,72 ^{Aa}	27,75 \pm 3,50 ^{BCa}	25,98 \pm 2,11 ^{Ba}	28,13 \pm 2,15 ^{BCa}	30,08 \pm 2,52 ^{ACa}	28,30 \pm 2,10 ^{BCa}	27,40 \pm 2,40 ^{BCa}	
GI-II	34,00 \pm 3,03 ^{Aa}	27,10 \pm 2,60 ^{Ba}	25,70 \pm 2,82 ^{Ba}	26,47 \pm 3,27 ^{Ba}	30,57 \pm 3,32 ^{Ca}	28,70 \pm 2,80 ^{BCa}	27,60 \pm 3,00 ^{BCa}	

Médias \pm desvios padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

Tabela 10. Contagem leucócitos totais (leuc), neutrófilos (neut), linfócitos (linf) e monócitos (mon) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D72	D84	D91	D98	D112	D126	D147	Valor de referência ⁽¹⁾
Leuc								
GC	9783,33 \pm 2190,36 ^{Aa}	5316,67 \pm 1165,19 ^{Ba}	6516,67 \pm 1396,30 ^{BCa}	8066,67 \pm 1862,97 ^{ACa}	9616,67 \pm 1655,80 ^{Aa}	9616,70 \pm 1655,80 ^{Aa}	9016,70 \pm 1117,88 ^{ACa}	4000 -12000 (/mm ³)
GA	9550 \pm 2663,64 ^{ABa}	4616,67 \pm 1304,48 ^{Ca}	6116,67 \pm 1151,38 ^{Da}	7850 \pm 1327,78 ^{Ea}	8683,33 \pm 1479,75 ^{Aa}	8683,30 \pm 1479,80 ^{AEa}	10733,30 \pm 1934,60 ^{Ba}	
GI-I	9666,67 \pm 1860,82 ^{ABa}	6250 \pm 1321,74 ^{Ca}	8166,67 \pm 3026,33 ^{ACa}	9650 \pm 3194,84 ^{ABa}	11150 \pm 2684,59 ^{ABab}	11150,00 \pm 2684,60 ^{Bab}	11100,00 \pm 2975,90 ^{Ba}	
GI-II	11883,33 \pm 1544,56 ^{ABa}	6583,33 \pm 1766,82 ^{Ca}	8780 \pm 2004,25 ^{CDa}	10366,67 \pm 3962,15 ^{ADa}	14200 \pm 3200,00 ^{Bb}	14200,00 \pm 3200,00 ^{Bb}	12083,30 \pm 2230,20 ^{ABa}	
Neut								
GC	3594,5 \pm 1477,65 ^{Aa}	1609,33 \pm 367,98 ^{Ba}	1658,83 \pm 771,33 ^{ABa}	2876,5 \pm 1161,99 ^{ABa}	3129,17 \pm 1227,86 ^{ABa}	3129,20 \pm 1227,86 ^{ABa}	3196,70 \pm 1004,15 ^{ABa}	600 – 4000 (/mm ³)
GA	3285,33 \pm 1313,52 ^{Aa}	1600,5 \pm 411,74 ^{Aa}	1738,5 \pm 507,26 ^{ABa}	2501,83 \pm 508,77 ^{BCa}	2813,5 \pm 876,92 ^{ABCa}	2813,50 \pm 876,90 ^{ABCa}	4261,50 \pm 1405,60 ^{Ca}	
GI-I	2785,5 \pm 923,67 ^{Aa}	2429,67 \pm 1618,81 ^{ABa}	1671,17 \pm 835,20 ^{ABa}	3220,17 \pm 1729,46 ^{ABa}	3809,67 \pm 1412,99 ^{ABab}	3809,70 \pm 1413,00 ^{ABab}	4376,80 \pm 2672,40 ^{Ba}	
GI-II	4323,83 \pm 1597,09 ^{ABa}	1945 \pm 807,95 ^{Aa}	2145,8 \pm 1076,81 ^{Aa}	4199,83 \pm 3220,08 ^{ABa}	5975,67 \pm 2660,23 ^{Bb}	5975,70 \pm 2660,20 ^{Bb}	3554,50 \pm 1522,80 ^{ABa}	
Linf								
GC	5085 \pm 1313,92 ^{ABa}	3302,33 \pm 1019,96 ^{Aa}	4446,5 \pm 1579,94 ^{ABa}	3639,83 \pm 2111,45 ^{ABa}	6037 \pm 1829,92 ^{Ba}	6037,00 \pm 1829,92 ^{Ba}	5224,80 \pm 940,05 ^{ABa}	2500-7500 (/mm ³)
GA	5734,66 \pm 2129,32 ^{Aa}	2729,16 \pm 1263,66 ^{Ba}	4022,16 \pm 1061,21 ^{BCa}	4588,66 \pm 1596,65 ^{ACa}	5024 \pm 535,67 ^{ACa}	5024,00 \pm 535,70 ^{ACa}	5937,20 \pm 886,10 ^{Aa}	
GI-I	6505,83 \pm 2207,88 ^{Aa}	3556,5 \pm 999,79 ^{Ba}	5823,16 \pm 2041,45 ^{Aa}	5962,66 \pm 2342,08 ^{Aa}	6450 \pm 2017,47 ^{Aa}	6450,00 \pm 2017,50 ^{Aa}	7064,50 \pm 2414,80 ^{Aa}	
GI-II	6659,83 \pm 1382,31 ^{ABa}	4054 \pm 979,28 ^{Ca}	5616 \pm 969,19 ^{ACa}	5553,83 \pm 1687,02 ^{ACa}	6953 \pm 1852,71 ^{ABa}	6953,00 \pm 1852,70 ^{ABa}	7619,70 \pm 2032,10 ^{Ba}	
Mon								
GC	290,66 \pm 202,71 ^{Aa}	153 \pm 108,28 ^{Aa}	132 \pm 75,98 ^{Aa}	371,4 \pm 348,35 ^{Aa}	232,5 \pm 131,76 ^{Aa}	232,50 \pm 131,760 ^{Aa}	256,70 \pm 77,28 ^{Aa}	25 – 840 (/mm ³)
GA	196 \pm 169,49 ^{ABa}	104,5 \pm 82,30 ^{Aa}	197,8 \pm 150,93 ^{ABab}	503,33 \pm 125,49 ^{Ba}	360,16 \pm 216,77 ^{ABa}	360,20 \pm 216,80 ^{ABa}	298,20 \pm 214,50 ^{ABa}	
GI-I	182 \pm 94,03 ^{Aa}	151,33 \pm 147,49 ^{Aa}	472,33 \pm 370,18 ^{Abc}	301,5 \pm 148,52 ^{Aa}	263,83 \pm 130,37 ^{Aa}	263,80 \pm 130,40 ^{Aa}	281,80 \pm 155,80 ^{Aa}	
GI-II	353,83 \pm 160,04 ^{ABa}	215,33 \pm 119,32 ^{Aa}	561,8 \pm 119,11 ^{Bc}	326,83 \pm 241,27 ^{ABa}	459,66 \pm 176,49 ^{ABa}	459,70 \pm 176,50 ^{ABa}	374,00 \pm 256,40 ^{ABa}	

Médias \pm desvios padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

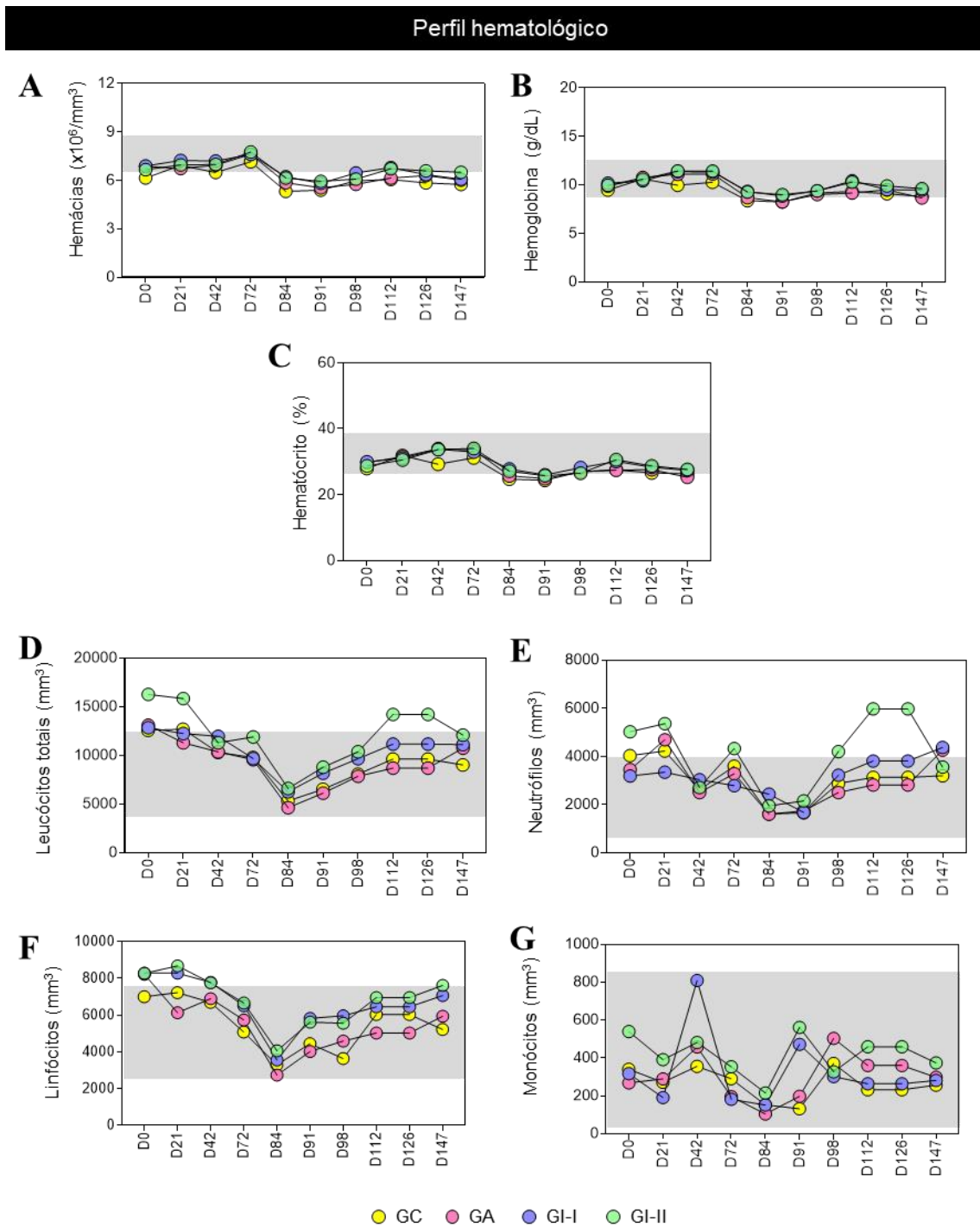


Figura 7. Perfil hematológico dos bovinos expressos em média da contagem de hemácias (A), dosagem de hemoglobina (B), percentual de hematócrito (C) e contagem de leucócitos totais (D), neutrófilos (E), linfócitos (F) e monócitos (G) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) nos dias experimentais (D0, D21, D42, D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147).

*As áreas dos gráficos em cinza representam os intervalos de referência segundo Radostits et al. (2007).

Fonte: Autora, 2025.

No período pós-desafio, as dosagens de ALT apresentaram-se acima dos valores de referência nos grupos GA ($52,16 \pm 10,14$) e GI-II ($52,66 \pm 10,03$) no D84 e no grupo GC

(51±9,50) no D98 (Figura 8A). Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos para este parâmetro durante o desafio (Tabela 11).

Os níveis séricos de AST foram significativamente ($p<0,05$) mais baixos em todos os grupos no D91 (GC: 67,33±14,05; GA: 78,66±24,24; GI-I: 61,33±11,64; GI-II: 62,66±9,40) em relação ao D84 (GC: 88,83±26,54; GA: 107,5±25,88; GI-I: 100,33±20,52; GI-II: 103,83±25,29) (Tabela 11). Os valores permaneceram dentro dos limites de referência durante o período de desafio (Figura 8B).

Observou-se que os níveis séricos de GGT e FA estavam dentro dos valores de referência em todos os grupos durante o período de desafio (Figura 8C e D).

A dosagem de CK apresentaram-se dentro dos valores de referência durante o desafio experimental.

Hipoproteinemia foi observada no GA (6,67±0,49) no D84 (Figura 9A). Todos os grupos apresentaram hipoalbuminemia a partir do D84, e as médias de albumina no D147 (GC: 2,40±0,20; GA: 2,50±0,30; GI-I: 2,30±0,20; GI-II: 2,50±0,30) foram significativamente ($p<0,05$) inferiores às observadas no início do desafio (D72) (GC: 3,00±0,18; GA: 3,20±0,24; GI-I: 3,10±0,22; GI-II: 3,30±0,22) (Figura 9B; Tabela 12).

As dosagens de globulina estavam acima dos valores de referência em todos os grupos durante o período pós desafio (Figura 9D).

As dosagens de BT e BI aumentaram significativamente ($p>0,05$) nos grupos GC, GA e GI-I no D84, no entanto, as médias do GC estavam acima do valor de referência no D84 e D91 e foram significativamente ($p<0,05$) mais altas em relação aos outros grupos (Figura 9C; Tabela 13).

As médias de BD não se apresentaram acima dos valores de referência em nenhum dos grupos durante este período (Figura 9E).

Tabela 11. Dosagem de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e creatina quinase (CK) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D72	D84	D91	D98	D112	D126	D147	Valores de referência ⁽¹⁾
ALT								
GC	37,66 \pm 5,68 ^{ABa}	47,5 \pm 6,65 ^{CDa}	29,66 \pm 6,97 ^{Aa}	51 \pm 9,50 ^{Ca}	39,5 \pm 3,56 ^{Bda}	32,5 \pm 2,70 ^{ABa}	29,8 \pm 2,30 ^{ABa}	10 a 50 (U/L)
GA	44 \pm 9,69 ^{ABCa}	52,16 \pm 10,14 ^{Aa}	35,16 \pm 15,09 ^{BDEa}	47,5 \pm 11,96 ^{ACa}	38,5 \pm 6,71 ^{BCDa}	32,2 \pm 6,00 ^{DEa}	27,5 \pm 5,50 ^{Ea}	
GI-I	36 \pm 3,79 ^{ABa}	44,66 \pm 10,11 ^{Aa}	25,5 \pm 6,68 ^{Ba}	47 \pm 9,34 ^{Aa}	33,5 \pm 5,86 ^{ABa}	33,2 \pm 18,40 ^{ABa}	28,5 \pm 18,50 ^{Ba}	
GI-II	44,5 \pm 12,36 ^{Aa}	52,66 \pm 10,03 ^{Aa}	30,16 \pm 10,87 ^{BCa}	49,83 \pm 8,06 ^{ADa}	41,33 \pm 10,32 ^{ABDa}	33,0 \pm 5,70 ^{BCDa}	28,8 \pm 7,30 ^{Ca}	
AST								
GC	83,83 \pm 19,56 ^{ABa}	88,83 \pm 26,54 ^{Aa}	67,33 \pm 14,05 ^{Ba}	81,16 \pm 10,08 ^{ABa}	73 \pm 4,34 ^{ABa}	89,7 \pm 23,50 ^{Aa}	64,0 \pm 12,10 ^{Ba}	78-132 (U/L)
GA	99,33 \pm 23,16 ^{Aa}	107,5 \pm 25,88 ^{Aa}	78,66 \pm 24,24 ^{Ca}	88,83 \pm 20,25 ^{BCa}	78,83 \pm 22,84 ^{Ca}	88,7 \pm 18,90 ^{BCa}	75,3 \pm 22,50 ^{Ca}	
GI-I	96,16 \pm 29,66 ^{ABa}	100,33 \pm 20,52 ^{Aa}	61,33 \pm 11,64 ^{Ca}	88,16 \pm 17,06 ^{ABa}	82,16 \pm 17,76 ^{Bda}	87,2 \pm 26,50 ^{ABa}	68,3 \pm 14,30 ^{CDa}	
GI-II	92 \pm 8,76 ^{ACa}	103,83 \pm 25,29 ^{Aa}	62,66 \pm 9,40 ^{Ba}	86,83 \pm 11,72 ^{ABCa}	79 \pm 10,75 ^{ABCa}	98,8 \pm 30,40 ^{Aa}	70,3 \pm 7,20 ^{BCa}	
GGT								
GC	19,50 \pm 3,72 ^{Aa}	18 \pm 4,38 ^{ABa}	16,16 \pm 3,76 ^{BCDa}	17,16 \pm 3,31 ^{ABCa}	14,66 \pm 3,2 ^{CDa}	16,7 \pm 2,70 ^{ABCDa}	14,0 \pm 3,30 ^{Da}	10-35 (U/L)
GA	17,16 \pm 2,32 ^{ABa}	17,66 \pm 1,96 ^{Aa}	15,16 \pm 2,56 ^{ABa}	14,83 \pm 2,04 ^{ABa}	13 \pm 2,36 ^{Ba}	16,7 \pm 3,90 ^{ABa}	16,0 \pm 4,60 ^{ABa}	
GI-I	18,83 \pm 3,54 ^{Aa}	18,66 \pm 4,63 ^{ABa}	15,16 \pm 3,71 ^{BCDa}	15,16 \pm 3,82 ^{BCDa}	13,5 \pm 4,46 ^{Ca}	18,2 \pm 4,10 ^{ABDa}	14,7 \pm 4,60 ^{CDa}	
GI-II	17,66 \pm 3,44 ^{Aa}	17,83 \pm 3,82 ^{Aa}	16,00 \pm 3,52 ^{ABa}	17,33 \pm 2,80 ^{ABa}	14,33 \pm 3,08 ^{Ba}	17,8 \pm 3,60 ^{Aa}	14,3 \pm 3,50 ^{Ba}	
FA								
GC	188,5 \pm 60,79 ^{ABa}	302 \pm 86,54 ^{Ca}	211 \pm 49,54 ^{ABa}	323,16 \pm 118,55 ^{Ca}	244,16 \pm 54,73 ^{ACa}	186,7 \pm 40,70 ^{ABa}	138,0 \pm 35,50 ^{Ba}	0-488 (U/L)
GA	175,5 \pm 37,04 ^{ABa}	306,66 \pm 97,40 ^{Ca}	223,83 \pm 57,26 ^{ADa}	317,5 \pm 108,16 ^{Ca}	251 \pm 57,52 ^{CDa}	173,0 \pm 48,60 ^{ABa}	148,5 \pm 41,00 ^{Ba}	
GI-I	162,83 \pm 32,86 ^{Aa}	302,66 \pm 132,98 ^{Ba}	224,33 \pm 108,98 ^{ABCa}	287 \pm 103,88 ^{Ba}	254,16 \pm 78,01 ^{BCa}	191,5 \pm 47,80 ^{ACa}	141,3 \pm 27,40 ^{Aa}	
GI-II	210 \pm 105,03 ^{ABa}	377,33 \pm 178,20 ^{Ca}	268,66 \pm 64,04 ^{ACa}	373,5 \pm 145,60 ^{Ca}	301,83 \pm 107,66 ^{ACa}	228,5 \pm 118,10 ^{ABa}	149,3 \pm 39,40 ^{Ba}	
CK								
GC	63,16 \pm 22,75 ^{Aa}	31,83 \pm 13,07 ^{Aa}	39,33 \pm 6,68 ^{Aa}	34,33 \pm 10,98 ^{Aa}	60,33 \pm 35,38 ^{Aa}	44,16 \pm 24,77 ^{Aa}	30,5 \pm 9,93 ^{Aa}	< 94 (U/L)
GA	31,33 \pm 20,6 ^{Aa}	32,83 \pm 17,42 ^{Aa}	35,83 \pm 18,16 ^{Aa}	36,5 \pm 23,19 ^{Aa}	29 \pm 11,33 ^{Aa}	44,17 \pm 23,53 ^{Aa}	38,67 \pm 18,38 ^{Aa}	
GI-I	39,66 \pm 22,11 ^{Aa}	28 \pm 8,49 ^{Aa}	27,5 \pm 12,21 ^{Aa}	51,33 \pm 31,97 ^{Aa}	28,33 \pm 15,47 ^{Aa}	31,33 \pm 16,85 ^{Aa}	22,50 \pm 9,18 ^{Aa}	
GI-II	34,67 \pm 32,25 ^{Aa}	35,33 \pm 16,39 ^{Aa}	32 \pm 3,63 ^{Aa}	34,5 \pm 10,29 ^{Aa}	28,33 \pm 17,41 ^{Aa}	33,33 \pm 28,17 ^{Aa}	27,33 \pm 24,40 ^{Aa}	

Médias \pm desvio padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

Tabela 12. Dosagem de proteínas totais (PT), albumina (Alb) e globulina (Glob) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D72	D84	D91	D98	D112	D126	D147	Valores de referência ⁽¹⁾
PT								
GC	7,07 \pm 0,20 ^{Aa}	6,82 \pm 0,30 ^{Aa}	7,04 \pm 0,50 ^{Aa}	7,20 \pm 0,23 ^{Aa}	7,15 \pm 0,33 ^{Aa}	7,00 \pm 0,30 ^{Aa}	7,00 \pm 0,50 ^{Aa}	6,74-7,46 (g/dL)
GA	7,12 \pm 0,27 ^{Aa}	6,67 \pm 0,49 ^{Aa}	7,09 \pm 0,65 ^{Aa}	6,78 \pm 0,54 ^{Aa}	6,90 \pm 0,33 ^{Aa}	7,30 \pm 0,50 ^{Aa}	7,20 \pm 1,30 ^{Aa}	
GI-I	7,23 \pm 0,35 ^{Aa}	6,96 \pm 0,28 ^{Aa}	6,96 \pm 0,51 ^{Aa}	7,04 \pm 0,52 ^{Aa}	7,20 \pm 0,08 ^{Aa}	7,30 \pm 0,20 ^{Aa}	6,80 \pm 0,70 ^{Aa}	
GI-II	7,41 \pm 0,46 ^{ABa}	6,96 \pm 0,30 ^{Aa}	7,42 \pm 0,53 ^{ABa}	7,20 \pm 0,52 ^{ABa}	7,34 \pm 0,33 ^{ABa}	7,60 \pm 0,50 ^{ABa}	7,70 \pm 0,60 ^{Ba}	
Alb								
GC	3,00 \pm 0,18 ^{Aa}	2,75 \pm 0,14 ^{ABa}	2,70 \pm 0,25 ^{Ba}	2,72 \pm 0,12 ^{Ba}	2,66 \pm 0,16 ^{BCa}	2,50 \pm 0,20 ^{BCa}	2,40 \pm 0,20 ^{Ca}	3,0-3,5 (g/dL)
GA	3,20 \pm 0,24 ^{Aa}	2,83 \pm 0,20 ^{ABa}	2,82 \pm 0,28 ^{ABa}	2,64 \pm 0,18 ^{Ba}	2,60 \pm 0,10 ^{Ba}	2,60 \pm 0,20 ^{Ba}	2,50 \pm 0,30 ^{Ba}	
GI-I	3,10 \pm 0,22 ^{Aa}	2,82 \pm 0,12 ^{Ba}	2,58 \pm 0,18 ^{Ca}	2,59 \pm 0,17 ^{Ca}	2,58 \pm 0,10 ^{Ca}	2,60 \pm 0,10 ^{Ca}	2,30 \pm 0,20 ^{Da}	
GI-II	3,30 \pm 0,22 ^{Aa}	2,92 \pm 0,14 ^{Ba}	2,89 \pm 0,36 ^{Ba}	2,68 \pm 0,21 ^{BCa}	2,70 \pm 0,18 ^{BCa}	2,60 \pm 0,10 ^{Ca}	2,50 \pm 0,30 ^{Ca}	
Glob								
GC	4,08 \pm 0,26 ^{Aa}	4,06 \pm 0,27 ^{Aa}	4,34 \pm 0,32 ^{Aa}	4,46 \pm 0,21 ^{Aa}	4,50 \pm 0,20 ^{Aa}	4,44 \pm 0,22 ^{Aa}	4,57 \pm 0,36 ^{Aa}	3,0-3,8 (g/dL)
GA	3,93 \pm 0,26 ^{Aa}	3,84 \pm 0,45 ^{Aa}	4,26 \pm 0,46 ^{Aa}	4,14 \pm 0,46 ^{Aa}	4,30 \pm 0,42 ^{Aa}	4,69 \pm 0,53 ^{Aa}	4,70 \pm 1,03 ^{Aa}	
GI-I	4,10 \pm 0,24 ^{Aa}	4,13 \pm 0,22 ^{Aa}	4,38 \pm 0,42 ^{Aa}	4,44 \pm 0,42 ^{Aa}	4,60 \pm 0,26 ^{Aa}	4,75 \pm 0,11 ^{Aa}	4,46 \pm 0,52 ^{Aa}	
GI-II	4,20 \pm 0,34 ^{Aa}	4,04 \pm 0,29 ^{Aa}	4,53 \pm 0,32 ^{ABa}	4,50 \pm 0,42 ^{ABa}	4,63 \pm 0,44 ^{ABa}	5,00 \pm 0,52 ^{ABa}	5,22 \pm 0,63 ^{Ba}	

Médias \pm desvio padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

Tabela 13. Dosagem de bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D72	D84	D91	D98	D112	D126	D147	Valores de referência ⁽¹⁾
BT								
GC	0,13 \pm 0,06 ^{Aa}	0,54 \pm 0,24 ^{Cb}	0,38 \pm 0,10 ^{BCb}	0,29 \pm 0,10 ^{ABa}	0,18 \pm 0,06 ^{Aa}	0,19 \pm 0,04 ^{Aab}	0,16 \pm 0,06 ^{Aa}	0,01 a 0,5 (mg/dL)
GA	0,07 \pm 0,02 ^{Aa}	0,22 \pm 0,06 ^{Ca}	0,19 \pm 0,08 ^{BCa}	0,18 \pm 0,04 ^{BCa}	0,12 \pm 0,04 ^{ABa}	0,16 \pm 0,03 ^{BCa}	0,16 \pm 0,05 ^{BCa}	
GI-I	0,07 \pm 0,02 ^{Aa}	0,26 \pm 0,10 ^{Ba}	0,26 \pm 0,04 ^{Bab}	0,22 \pm 0,08 ^{Ba}	0,24 \pm 0,09 ^{Ba}	0,28 \pm 0,11 ^{Ab}	0,18 \pm 0,07 ^{ABa}	
GI-II	0,09 \pm 0,04 ^{Aa}	0,24 \pm 0,10 ^{ABa}	0,20 \pm 0,09 ^{ABa}	0,31 \pm 0,14 ^{Ba}	0,19 \pm 0,14 ^{ABa}	0,29 \pm 0,07 ^{Bb}	0,21 \pm 0,09 ^{Ba}	
BD								
GC	0,03 \pm 0,007 ^{Aa}	0,04 \pm 0,02 ^{Aa}	0,03 \pm 0,007 ^{Aa}	0,05 \pm 0,01 ^{Aa}	0,04 \pm 0,01 ^{Aa}	0,08 \pm 0,02 ^{Ba}	0,04 \pm 0,01 ^{Aa}	0,04 a 0,44 (mg/dL)
GA	0,03 \pm 0,01 ^{Aa}	0,04 \pm 0,01 ^{ABa}	0,03 \pm 0,009 ^{Aa}	0,03 \pm 0,01 ^{ABa}	0,03 \pm 0,02 ^{Aa}	0,06 \pm 0,02 ^{Ba}	0,05 \pm 0,03 ^{ABa}	
GI-I	0,04 \pm 0,008 ^{Aa}	0,04 \pm 0,01 ^{Aa}	0,04 \pm 0,01 ^{Aa}	0,02 \pm 0,01 ^{Aa}	0,03 \pm 0,01 ^{Aa}	0,08 \pm 0,03 ^{Ba}	0,04 \pm 0,02 ^{Aa}	
GI-II	0,09 \pm 0,04 ^{Aa}	0,24 \pm 0,10 ^{ABa}	0,20 \pm 0,09 ^{Aa}	0,31 \pm 0,14 ^{Aa}	0,19 \pm 0,14 ^{Aa}	0,08 \pm 0,02 ^{Ba}	0,05 \pm 0,02 ^{ABa}	
BI								
GC	0,1 \pm 0,06 ^{Aa}	0,50 \pm 0,26 ^{Cb}	0,36 \pm 0,11 ^{BCb}	0,25 \pm 0,10 ^{ABa}	0,14 \pm 0,06 ^{Aa}	0,11 \pm 0,03 ^{Aa}	0,12 \pm 0,05 ^{Aa}	0,0 a 0,30 (mg/dL)
GA	0,04 \pm 0,02 ^{Aa}	0,17 \pm 0,07 ^{Ca}	0,16 \pm 0,08 ^{BCa}	0,15 \pm 0,02 ^{BCa}	0,09 \pm 0,02 ^{ABa}	0,10 \pm 0,03 ^{ABCa}	0,11 \pm 0,04 ^{ABCa}	
GI-I	0,03 \pm 0,02 ^{Aa}	0,22 \pm 0,10 ^{Ba}	0,22 \pm 0,04 ^{Bab}	0,19 \pm 0,09 ^{Ba}	0,21 \pm 0,10 ^{Ba}	0,20 \pm 0,11 ^{Bab}	0,14 \pm 0,06 ^{ABa}	
GI-II	0,06 \pm 0,04 ^{Aa}	0,21 \pm 0,09 ^{ABa}	0,18 \pm 0,09 ^{ABa}	0,28 \pm 0,13 ^{Ba}	0,16 \pm 0,11 ^{ABa}	0,22 \pm 0,05 ^{ABb}	0,16 \pm 0,09 ^{ABa}	

Médias \pm desvio padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

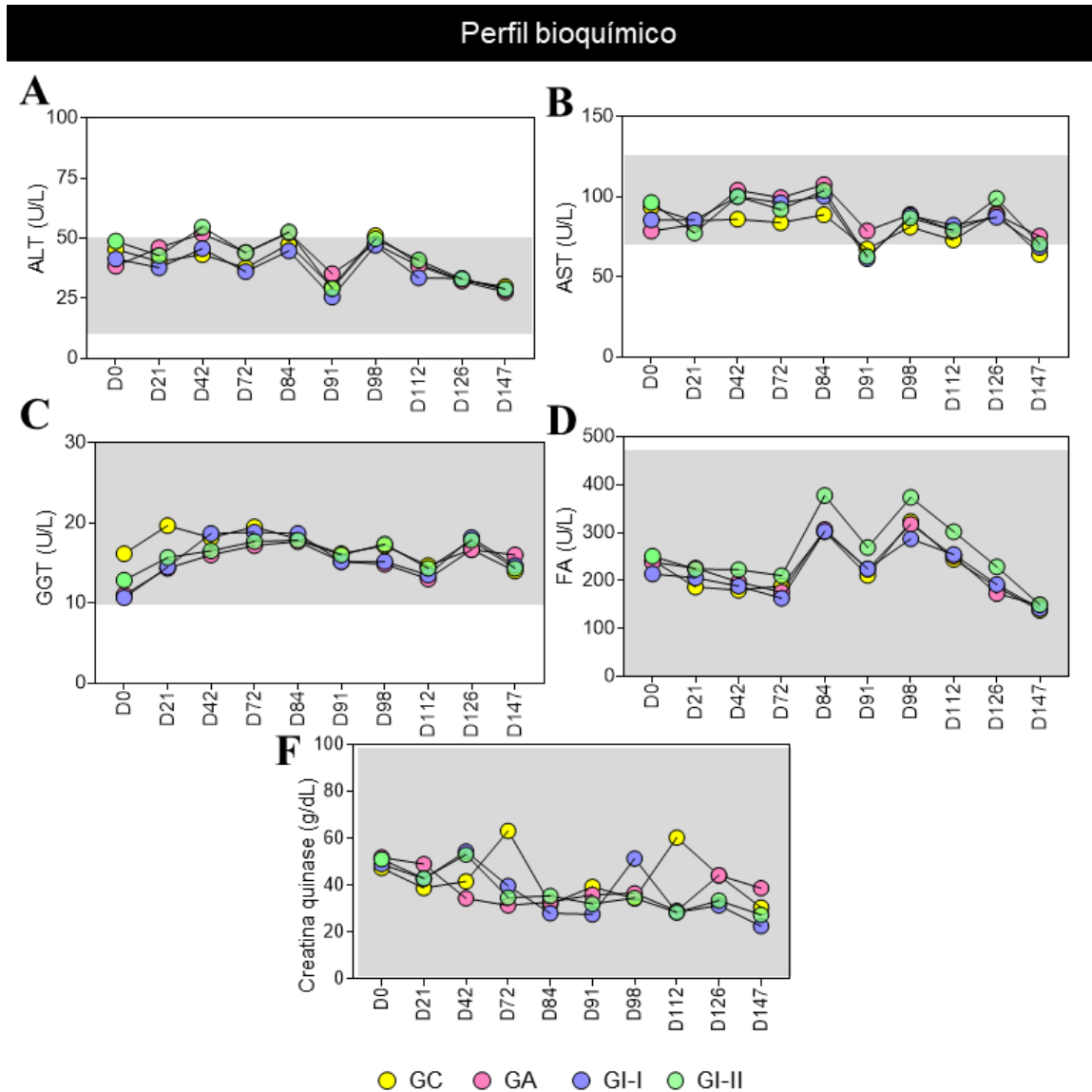


Figura 8. Médias das dosagem de alanina aminotransferase (ALT) (A), aspartato aminotransferase (AST) (B), gama glutamiltransferase (GGT) (C), fosfatase alcalina (FA) (D) e creatina quinase (CK) (E) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42) e desafio (D72, D91, D98, D112, D126 e D147).

*As áreas dos gráficos em cinza representam os intervalos de referência segundo Radostits et al. (2007).

Fonte: Autora, 2025.

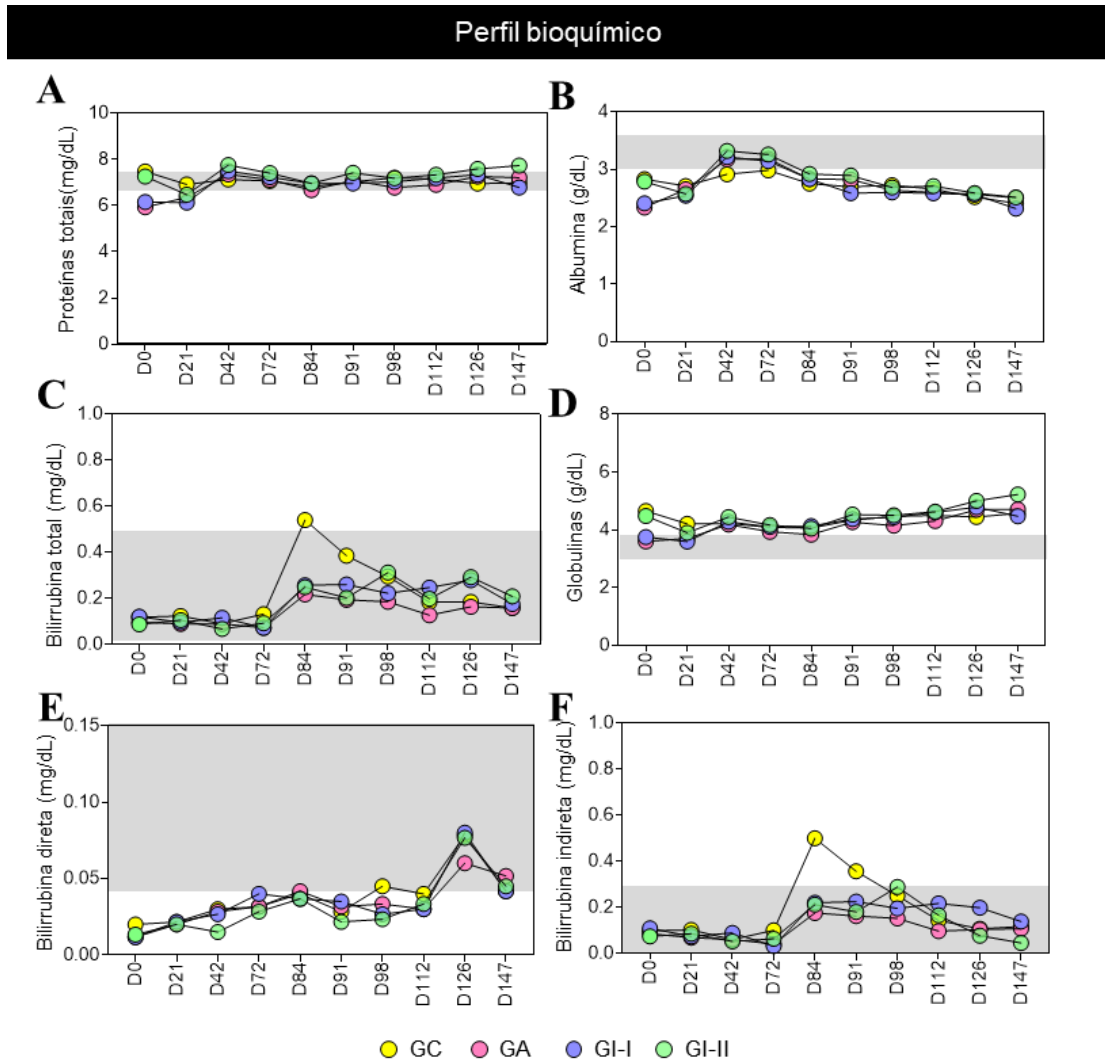


Figura 9. Médias das dosagens de proteínas totais (A), albumina (B), globulinas (C), bilirrubina total (D), bilirrubina direta (E) e bilirrubina indireta (F) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período de imunização (D0, D21 e D42) e desafio (D72, D91, D98, D112, D126 e D147).

*As áreas dos gráficos em cinza representam os intervalos de referência segundo Radostits et al. (2007).

Fonte: Autora, 2025.

No D72, o GI-II apresentou média de creatinina ($2,11 \pm 0,49$) acima do valor de referência (Figura 10A). As médias de ureia dos grupos GC ($7,7 \pm 1,40$), GA ($7,5 \pm 1,40$) e GI-I ($9,0 \pm 1,50$) estavam abaixo dos valores de referência no D126 e nos grupos GC e GA foram significativamente ($p < 0,05$) menores que a média do GI-II ($11,8 \pm 4,3$) (Figura 10B; Tabela 14).

Foi possível observar redução significativa ($p < 0,05$) na glicemia do grupo GC ($45,83 \pm 16,03$) e hipoglicemia no GA ($44,5 \pm 9,54$) no D84 (Figura 10C; Tabela 14). Foi observada hipoglicemia no GC ($42,00 \pm 7,00$) e GI-II ($41,80 \pm 6,30$) no D126 (Figura 10C). Após esse dia, no D147 GC: $60,30 \pm 4,80$; GA: $60,20 \pm 9,40$; GI-I: $54,30 \pm 8,40$; GI-II: $57,50 \pm 7,60$) foi observado aumento significativo ($p < 0,05$) desse parâmetro em todos os grupos em relação ao D126 (Tabela 14).

Tabela 14. Dosagem de ureia e creatinina (Creat) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o desafio experimental com *T. vivax* (D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147). Os valores estão expressos em média \pm desvio padrão e analisados estatisticamente entre grupos e entre dias experimentais pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

	D72	D84	D91	D98	D112	D126	D147	Valores de referência ⁽¹⁾
Creat								
GC	1,75 \pm 0,18 ^{Aa}	1,46 \pm 0,27 ^{Ba}	1,21 \pm 0,20 ^{BCa}	1,29 \pm 0,18 ^{BCa}	1,32 \pm 0,24 ^{Ca}	1,70 \pm 0,30 ^{Aa}	1,40 \pm 0,30 ^{Ca}	1-2 (mg/dL)
GA	1,9 \pm 0,14 ^{Aa}	1,62 \pm 0,25 ^{Ba}	1,28 \pm 0,22 ^{CDa}	1,36 \pm 0,18 ^{BEa}	1,36 \pm 0,15 ^{BEa}	1,70 \pm 0,30 ^{Ca}	1,50 \pm 0,30 ^{DEa}	
GI-I	1,85 \pm 0,19 ^{Aa}	1,50 \pm 0,30 ^{Ba}	1,25 \pm 0,22 ^{BCa}	1,34 \pm 0,20 ^{BCa}	1,29 \pm 0,20 ^{ADa}	1,70 \pm 0,30 ^{CDa}	1,40 \pm 0,30 ^{BCa}	
GI-II	2,11 \pm 0,49 ^{Aa}	1,80 \pm 0,55 ^{Ba}	1,34 \pm 0,10 ^{ABCa}	1,40 \pm 0,19 ^{BCa}	1,43 \pm 0,18 ^{BCa}	1,80 \pm 0,30 ^{ACa}	1,60 \pm 0,10 ^{BCa}	
Ureia								
GC	9,33 \pm 1,03 ^{Aa}	12,33 \pm 4,37 ^{ABCa}	11,17 \pm 3,66 ^{ABa}	18,00 \pm 4,69 ^{BCa}	15,00 \pm 5,58 ^{ABCa}	7,7 \pm 1,4 ^{Aa}	18,8 \pm 4,6 ^{Cab}	10-25 (mg/dL)
GA	10,83 \pm 2,32 ^{BCa}	12,67 \pm 3,67 ^{ABCa}	12,33 \pm 5,64 ^{ABCa}	16,83 \pm 5,19 ^{ACa}	18,00 \pm 5,22 ^{Aa}	7,5 \pm 1,4 ^{Ba}	17,0 \pm 2,8 ^{ACab}	
GI-I	9,17 \pm 1,94 ^{BCa}	13,17 \pm 3,97 ^{BCa}	14,50 \pm 3,94 ^{ABCa}	20,33 \pm 5,04 ^{Aa}	18,83 \pm 6,46 ^{ABa}	9,0 \pm 1,5 ^{Cab}	14,8 \pm 4,0 ^{ABCa}	
GI-II	9,83 \pm 2,99 ^{Aa}	11,50 \pm 3,78 ^{ABa}	11,33 \pm 5,78 ^{ABa}	17,20 \pm 6,83 ^{ABCa}	19,67 \pm 10,98 ^{BCa}	11,8 \pm 4,3 ^{ABb}	22,8 \pm 3,4 ^{Cb}	
Glicose								
GC	60,33 \pm 5,92 ^{Aa}	45,83 \pm 16,03 ^{Ba}	64,66 \pm 6,65 ^{Aa}	72,5 \pm 2,88 ^{Aa}	69,5 \pm 5,00 ^{Aa}	42,00 \pm 7,00 ^{Ba}	60,30 \pm 4,80 ^{Aa}	45-75
GA	54,83 \pm 4,80 ^{ACa}	44,5 \pm 9,54 ^{Aa}	64,5 \pm 6,53 ^{BCa}	70,83 \pm 6,11 ^{Ba}	67,5 \pm 5,92 ^{Ba}	46,80 \pm 3,50 ^{Aa}	60,20 \pm 9,40 ^{BCa}	
GI-I	54,5 \pm 2,74 ^{BCa}	46,5 \pm 15,98 ^{Ba}	64,16 \pm 8,04 ^{ACa}	67,33 \pm 7,26 ^{ACa}	69 \pm 3,80 ^{Aa}	45,50 \pm 6,80 ^{Ba}	54,30 \pm 8,40 ^{BCa}	
GI-II	52,17 \pm 7,38 ^{BCa}	48,17 \pm 13,47 ^{Ba}	68,17 \pm 9,66 ^{ACa}	75,5 \pm 15,44 ^{Aa}	72 \pm 8,37 ^{Aa}	41,80 \pm 6,30 ^{Ba}	57,50 \pm 7,60 ^{ABCa}	

Médias \pm desvio padrão seguidas por letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença significativa entre os dias experimentais dentro de cada grupo, enquanto letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença significativa entre os grupos em um mesmo dia experimental. Médias seguidas por letras iguais em linhas e colunas não diferem entre si, conforme teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

⁽¹⁾ Radostits et al (2007).

Fonte: Autora, 2025.

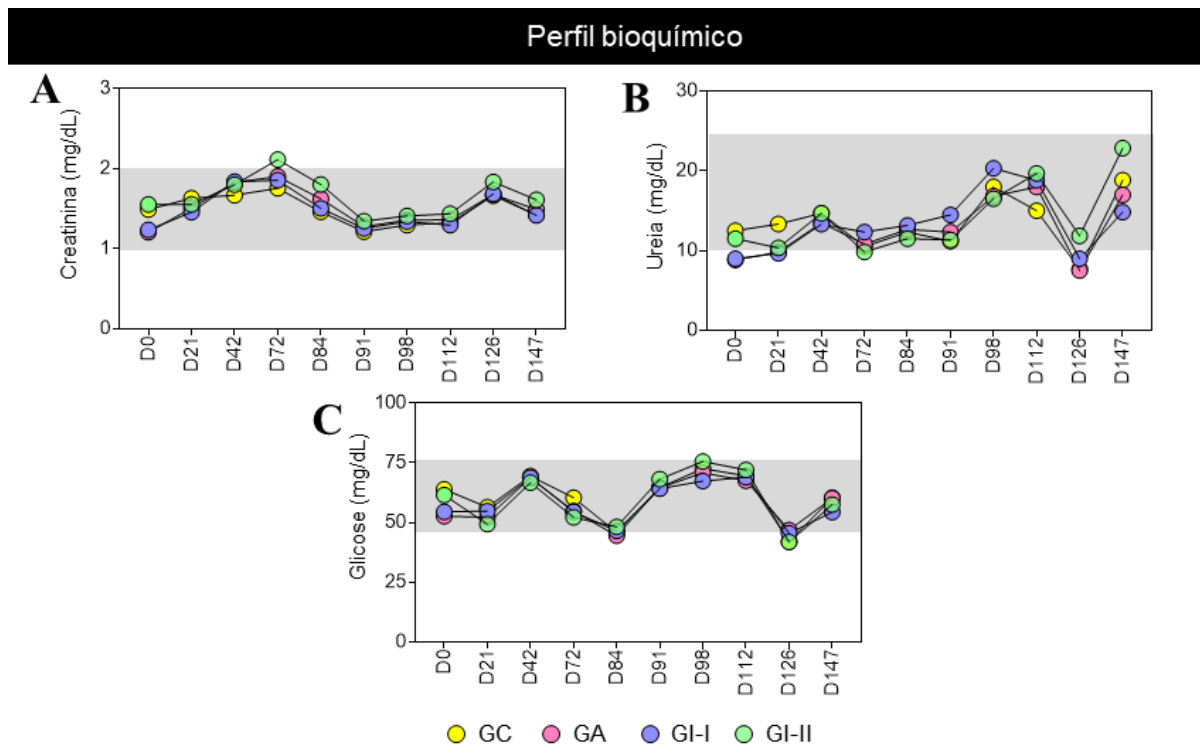


Figura 10. Médias das dosagem de creatinina (A), ureia (B) e glicose (C) dos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) durante o período experimental (D0, D21, D42, D72, D91, D98, D112, D126 e D147).

*As áreas dos gráficos em cinza representam os intervalos de referência segundo Radostits et al. (2007).

Fonte: Autora, 2025.

Os anticorpos IgG anti-*T. vivax* foram observados a partir do D84 em 16,7% dos animais do GA e em 50% dos GI-I e GI-II. No GC, soroconversão de 16,7% dos animais foi observada no D91. Soroconversão de 100% dos animais do GI-I foi observada no D91 e dos demais grupos experimentais somente no D112 (Figura 12).

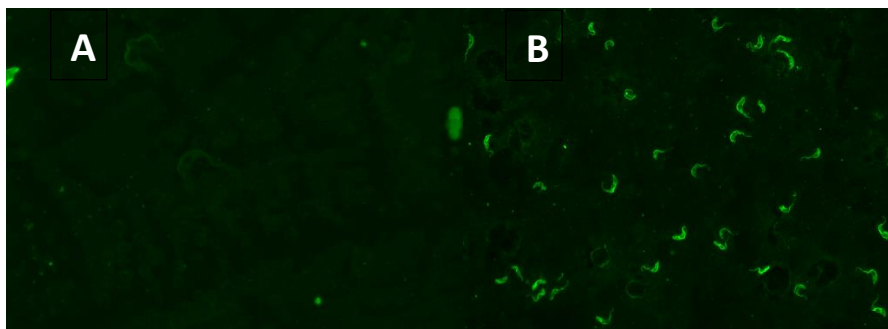


Figura 11. Microscopia óptica de lâminas de imunofluorescência indireta (IFI) mostrando amostra negativa (A) e amostra positiva (B) com formas tripomastigotas de *Trypanosoma vivax*. Imagens obtidas em microscópio de imunofluorescência (EVOS™, 1000x).

Fonte: Autora, 2025.

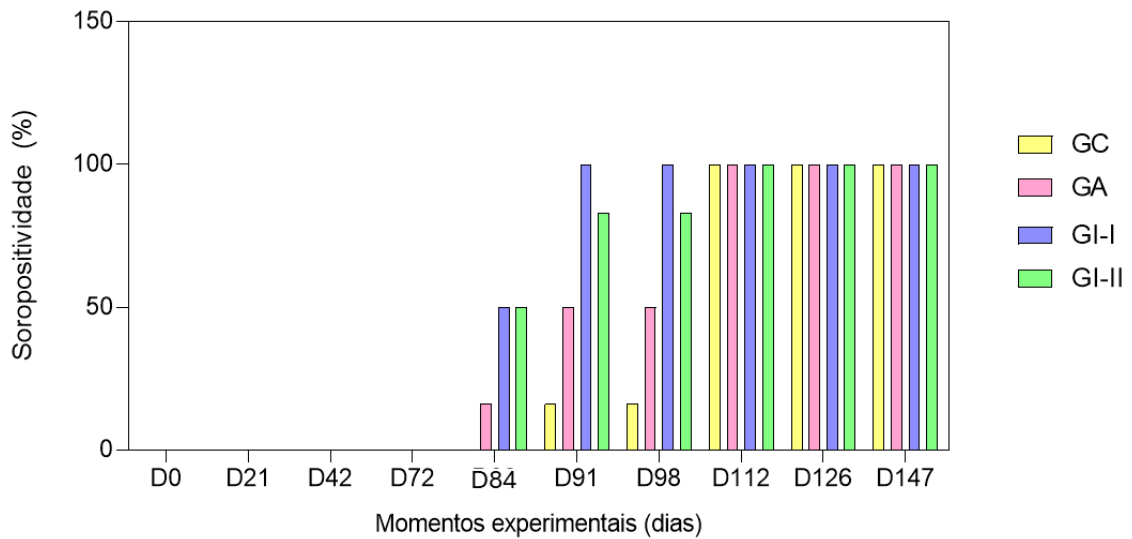


Figura 12. Percentual de anticorpos anti-*Trypanosoma vivax* nos bovinos dos grupos controle (GC), adjuvante (GA), imunizado I (GI-I) e imunizado II (GI-II) nos dias experimentais (D0, D21, D42, D72, D84, D91, D98, D112, D126 e D147).

Fonte: Autora, 2025.

6 DISCUSSÃO

O fato de não terem sido observadas alterações cutâneas, como edema, eritema, formação de nódulos, abscessos, feridas ou dor nos animais durante o período de imunização, demonstra que a formulação da vacina recombinante quimérica *T. vivax* (PRqTv), embora contenha a saponina e o hidróxido de alumínio como adjuvantes, conhecidos por sua potencial reatogenicidade local (Petrovsky, 2008), apresentou um perfil de segurança local favorável.

A ausência destes efeitos nos animais que receberam a imunização (GI-I e GI-II) e nos animais que receberam adjuvante (GA) pode indicar que a concentração dos adjuvantes utilizada, bem como as condições de formulação da PRqTv foram adequadas para evitar efeitos adversos, pois, de acordo com Petrovsky (2015), estes adjuvantes podem causar dor e inflamação leve até reações mais graves, como formação de granulomas, abscessos e ulcerações cutâneas. Isto ocorre pela irritação química direta ou pela resposta inflamatória induzida por dano tecidual devido à indução de reações de hipersensibilidade pelos adjuvantes (Petrovsky, 2015; Fan et al., 2022).

Os aumentos nos parâmetros fisiológicos como as frequências cardíaca e respiratória observados no D0 podem ser atribuídos à resposta aguda ao estresse desencadeado pela manipulação dos animais. Uma vez que o estresse causado pelo manejo leva a ativação do sistema nervoso central por vias aferentes, resultando na liberação de catecolaminas, que

promovem aumento da temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória (Fernandez-Novo et al., 2020; Jurkovich; Hejel; Kovács, 2024).

Segundo autores (Silva et al., 2004; Petrovsky, 2008, 2015; Fan et al., 2022), os adjuvantes utilizados podem causar letargia e anorexia. No entanto, a redução progressiva do ECC observada em todos os grupos durante o período de imunização provavelmente esteve relacionada a fatores ambientais, como a estação seca (maio a setembro, período de condução experimental), que reduziu a qualidade da forragem, além da troca de pasto, condições conhecidas por comprometerem a nutrição e, conseqüentemente, a condição corporal dos bovinos (Reis et al., 2009). A perda de ECC nesse período, atribuída às limitações nutricionais, é corroborada pela hipoalbuminemia observada nos grupos no período de imunização.

A discreta hipertermia observada no GI-I (D42) pode ser atribuída à ativação do sistema imunológico pelos adjuvantes, a partir da liberação de citocinas pró-inflamatórias, como interleucinas e fator de necrose tumoral (TNF- α), que podem atuar no hipotálamo, o centro de controle da temperatura do corpo (Fan et al., 2022; Koenneker et al., 2023).

A discreta redução na média da contagem de hemácias observada no grupo controle (GC) durante o período de imunização (D0 e D42) pode estar relacionada a fatores nutricionais, uma vez que a ausência de nutrientes essenciais pode comprometer a hematopoiese (González-Montaña et al., 2020). No entanto, é importante ressaltar que a redução isolada na contagem de hemácias não é suficiente para caracterizar anemia (Katsogiannou et al., 2018).

Em relação aos leucócitos, durante a imunização, as alterações observadas no perfil leucocitário (D0) podem ser atribuídas ao estresse induzido pelo manejo, visto que em situações de estresse, a liberação de epinefrina no sangue promove a mobilização de leucócitos, especialmente neutrófilos e linfócitos, para a circulação periférica, justificando a leucocitose por neutrofilia e linfocitose (Fagliari et al., 1998; Mcgavin, 2009). Masebo et al. (2023) avaliaram o estresse de touros durante os primeiros 15 dias de adaptação após a transferência para o confinamento e observaram um aumento significativo ($p < 0,05$) nas contagens de leucócitos totais e de neutrófilos, corroborando com o encontrado no presente estudo.

Embora não existam relatos de aumento sistêmico de linfócitos em decorrência da imunização, a resposta imune induzida pela vacina é mediada principalmente pelos linfócitos T e B (Vitoriano-Souza et al., 2012), e, nos dias D21 e D42, observou-se linfocitose nos grupos imunizados (GI-I e GI-II). A maioria dos trabalhos relata aumento local ou em órgãos linfoides, justificado pelos adjuvantes utilizados nas formulações vacinais, mas não aumento de linfócitos circulantes (Gaidi et al., 2002; Vitoriano-Souza et al., 2012; De Mello et al., 2025). No entanto, para elucidar melhor essa resposta e confirmar que a linfocitose ocorreu em função da

imunização, são necessários os resultados de citocinas, como IL-2, IFN- γ e TNF- α , que evidenciem a ativação da resposta imunológica.

Em relação ao perfil bioquímico no período de imunização, os discretos aumentos nas dosagens de ALT nos grupos experimentais foram isolados e não possuem significado clínico e segundo Lopes; Biondo; Santos, (2007), distúrbios hepáticos ocorrem quando há elevação significativa associada a mais de um dos parâmetros enzimáticos avaliados, (AST, GGT e FA). Além disso, em bovinos, a ALT tem pouco valor diagnóstico, uma vez que é que a concentração de ALT nos hepatócitos de ruminantes é baixa (Scheffer, González 2006, Santos et al., 2008; Moura et al., 2009).

As reduções observadas nas dosagens de proteínas totais e albumina nos dias D0 e D21 podem ser atribuídas aos efeitos fisiológicos do estresse de manejo e aumento do catabolismo proteico (Lopes; Biondo; Santos, 2007). Outro fator que pode ter contribuído para a hipoalbuminemia é o fato de o experimento ter iniciado no período da seca (maio) e as pastagens nessa época apresentam menor valor nutricional e baixo teor proteico, limitando a ingestão de nutrientes essenciais para a síntese de albumina, como também relatado por Tambara et al. (2021).

No D42 as dosagens de proteínas totais acima dos valores de referência nos grupos GI-I e GI-II podem estar associadas ao aumento das globulinas, uma vez que a vacinação estimula o sistema imunológico a produzir anticorpos específicos para *T. vivax*, os quais estão associados à fração da globulina no soro (Esfandiari et al., 2020).

O período pré-patente entre a inoculação experimental de *T. vivax* e o aparecimento das formas tripomastigotas de oito dias se alinhou com os resultados obtidos por Bassi et al (2018) que detectaram a presença do protozoário 12 DPI no *Buffy coat*. Por outro lado, Fidelis Junior et al (2016) relataram um período pré-patente mais curto, com a detecção das formas tripomastigotas ocorrendo entre dois e três dias após a inoculação, pelo método de Woo. Este resultado mais precoce em relação aos encontrados neste experimento pode ser atribuído à virulência do protozoário, a dose infectante ou ao método utilizado para avaliação da parasitemia, pois em termos de sensibilidade, a técnica de Woo tende a ser mais eficaz para detecção de baixa parasitemia, por concentrar os parasitas em um volume menor, facilitando sua detecção (Murray; Murray; McIntyre, 1977; Alcindo et al., 2022).

Os picos de parasitemia observados em todos os grupos no 12 DPI (D84) foram semelhantes aos encontrados por outros autores (Osório et al., 2008a; Constable et al., 2016; Fidelis Junior et al., 2016; Ramirez-Barrios et al., 2019; Da Silva et al., 2022). Além disso, o aumento da temperatura retal observado no pico de parasitemia faz parte da resposta

inflamatória induzida pela infecção por *T. vivax* como parte da imunidade adaptativa, pois a elevação da temperatura pode dificultar a multiplicação do patógeno, além de melhorar a eficiência das células do sistema imunológico para combater a infecção (Felipe; Kataoka, 2019; Castelli et al., 2021). Além disso, foi observado aumento na temperatura retal concomitante ao aumento da parasitemia. Ramirez-Barrios et al. (2019) também observaram aumento da temperatura corporal dos animais concomitante ao aumento da parasitemia, e os picos febris e parasitêmicos ocorreram entre os dias 6 e 12 do experimento.

No pós-desafio, os animais mantiveram o ECC reduzido, o que corrobora a hipótese de perda por fatores nutricionais, uma vez que, neste período, além da seca, ocorreram incêndios que comprometeram ainda mais a qualidade do pasto. Além disso, Batista et al. (2006) relataram que a infecção aguda por *T. vivax* pode contribuir para a redução do ECC. Em seu estudo, os autores observaram ausência de ganho de peso em ovinos experimentalmente infectados por *T. vivax* até o 60º dia pós-infecção (DPI), evidenciando o efeito negativo da infecção sobre o aumento de peso.

A anemia significativa observada no pico de parasitemia (D84) nos grupos não imunizados pode ser explicada pela liberação do fator hemolítico pelas tripomastigotas, com deposição de imunocomplexos e lise de hemácias (Baral, 2010). De forma semelhante, Schenk et al. (2001) relataram que o aumento da parasitemia esteve associado à elevação da temperatura corporal e à redução dos valores de hematócrito, caracterizando os principais achados clínico-hematológicos da infecção por *T. vivax*, também observados no presente estudo. Estes resultados estão em concordância aos descritos por outros autores (Taylor, 1998b; Almeida et al., 2008; Batista et al., 2018; Pereira et al., 2018; Stijlemans et al., 2018). É importante ressaltar que os grupos imunizados aumentaram significativamente ($p < 0,05$) os parâmetros eritrocitários no D98 em relação ao dia em que apresentaram anemia (D91), demonstrando uma importante recuperação frente ao sinal mais patognomônico da tripanossomiase.

Fritzen et al. (2025) observaram anemia em animais infectados por *T. vivax* e sugeriram que o aumento na produção de monócitos, decorrente da ativação do sistema mononuclear fagocitário, contribuiu para a eritrofagocitose, assim como observado no D91 nos grupos imunizados.

A literatura descreve que leucopenia, neutropenia e linfopenia são achados comuns no leucograma de bovinos durante períodos de parasitemia (Batista et al., 2008; Fidelis Junior et al., 2016). No presente estudo, embora esses parâmetros tenham permanecido dentro dos valores de referência no pico de parasitemia, observou-se redução significativa ($p < 0,05$) em todos os grupos quando comparados ao início do desafio experimental. Autores sugerem que a

redução dessas células pode estar relacionada à apoptose celular induzida por grandes quantidades de antígenos tripanossomais (Happi; Milner; Antia, 2012), à ação da neuraminidase plasmática liberada pelos protozoários (Esievo e Saror, 1983) ou ao estresse oxidativo e à resposta inflamatória exacerbada em bovinos infectados (Fritzen et al., 2025).

Além disso, estudos relataram que a redução de eritrócitos pode contribuir para a diminuição neutrofílica, uma vez que exercem papel protetor sobre os neutrófilos contra a apoptose (Aoshiba et al., 1999; Fidelis Junior et al., 2016). Dessa forma, a menor contagem de hemácias pode favorecer a redução dessas células, em concordância com o observado no presente estudo. A leucocitose por neutrofilia no GI-II após o D112 também foi observada por outros autores em infecções naturais (Neto et al., 2019) e experimentais (Moura et al., 2009; Bassi et al., 2018) por *T. vivax*, indicando uma possível recuperação da resposta frente à infecção, visto que, após esse momento, não foram mais observados tripomastigotas circulantes nesse grupo.

Em relação ao perfil bioquímico após o desafio, as dosagens de ALT acima dos valores de referência nos grupos GA e GI-II no D84 e no GC no D91 são comuns em infecções por *T. vivax* (Bakari et al., 2017; Kadima et al., 2000b; Aliyu et al., 2022). Resultados semelhantes foram encontrados por Espinoza e Primera (2002) em seu estudo para avaliar concentração de ALT em soro de cabras infectadas por *T. vivax*, e observaram aumento significativo desta enzima entre os períodos pré e pós infecção.

Quanto às dosagens de AST de todos os grupos significativamente ($p < 0,05$) reduzidas no D91, outros experimentos mostraram que durante a infecção por *T. vivax*, os valores de AST podem permanecer dentro da faixa de referência ou apresentar redução significativa em relação ao basal, especialmente após o pico de parasitemia (Kadima et al., 2000b; Fidelis Junior et al., 2016). Kadima et al. (2000) sugeriram que essa redução pode estar relacionada a lesões teciduais que comprometem a integridade dos hepatócitos, reduzindo a liberação.

Os valores de CK dentro dos limites de referência durante o desafio indicam que não houve lesão muscular nos bovinos. Schenk et al. (2001) relataram que os valores de CK tendem a permanecer estáveis ou apresentar discreto aumento, provavelmente em decorrência do estresse metabólico ou de inflamação sistêmica, mas sem evidências de dano muscular significativo.

O aumento de bilirrubina total observado no pico de parasitemia (D84) é amplamente descrito na literatura e decorre, principalmente, da hemólise extravascular, podendo ser agravado por lesões hepáticas secundárias (Kadima et al., 2000b; Frange et al., 2013; Bakari et al., 2017). No grupo controle (GC), o aumento significativo ($p < 0,05$) da BT em relação aos

demais momentos e grupos experimentais, pode estar associado à anemia significativa ($p < 0,05$) observada nesse grupo no mesmo período. Esse achado reforça o padrão fisiopatológico descrito para infecções por *T. vivax*, nas quais a anemia resulta da ação das formas tripomastigotas sobre as hemácias, da adesão de antígenos parasitários e da deposição de imunocomplexos na superfície eritrocitária, culminando em hemólise e elevação da bilirrubina indireta (Almeida et al., 2008; Stijlemans et al., 2018).

Esse mecanismo pode justificar os achados observados no presente estudo, uma vez que o GC apresentou valores de bilirrubina indireta acima dos parâmetros de referência nos dias D84 e D91, significativamente ($p < 0,05$) mais elevados em comparação aos demais grupos. Esse resultado sugere um quadro de hemólise mais acentuado no grupo não imunizado, condizente com a anemia significativa observada nesses animais. Schenk et al. (2001) relataram a ocorrência de anemia hemolítica nos estágios iniciais da infecção por *T. vivax* e Frange et al., (2013) ao descrever as características hematológicas e bioquímicas dos animais que apresentavam tripanossomíase observaram que 100% dos animais apresentavam bilirrubina indireta acima dos parâmetros de referência.

Segundo Latimer, Mahaffey e Prasse (2004), a redução simultânea dos níveis de albumina e ureia pode ser indicativa de deficiência proteica por causas nutricionais evidenciadas neste estudo, uma vez que todos os grupos apresentaram hipoproteinemia no período pós-desafio e redução nos níveis de ureia no D126. Além disso, este quadro pode ter sido influenciado pela tripanossomíase pode induzir apatia associada à anemia, devido à redução no transporte de oxigênio pela destruição de hemácias, e também perda de apetite (Castelli et al., 2021).

A hipoglicemia observada no grupo GA e a redução significativa ($p < 0,05$) dos níveis glicêmicos no grupo GC no D84 podem estar relacionadas ao fornecimento energético inadequado, decorrente do período de seca, ao gasto energético ocasionado pela hipertermia e a utilização da glicose como fonte de energia pelo *T. vivax*, pois quanto maior a parasitemia, maior é a espoliação energética pelo parasito. Isto ocorre pois o mesmo possui transportadores similares aos das hemácias em sua membrana plasmática, permitindo ao parasito maior captação de glicose (Fidelis Junior et al., 2016; Lopes et al., 2018).

Na IFI, a soropositividade nos grupos GI-I e GI-II com anticorpos anti-*T. vivax* após o desafio (D84), em comparação ao GC, está associada ao uso de adjuvantes, que aceleraram e intensificaram a produção de IgG. Os altos níveis de anticorpos são reconhecidos como mecanismos eficientes para manter baixos índices de parasitemia (Schenk et al., 2001; Fidelis Junior et al., 2016; Da Silva et al., 2022).

O perfil anticorpo-dependente nos grupos imunizados explica a sintomatologia atenuada nestes animais, especialmente a anemia mais branda, em comparação ao GC e GA, pois as moléculas de IgG ligam-se especificamente à antígenos de superfície e toxinas liberadas pelos tripomastigotas, neutralizando sua atividade e impedindo a fixação nos eritrócitos e demais células-alvo, limitando a hemólise (Osório et al., 2008). Isto ocorre pois os anticorpos IgG são eficientes tanto na neutralização de toxinas liberadas pelos parasitas quanto na promoção de mecanismos de eliminação, pois a opsonização promovida pelos anticorpos favorece o reconhecimento e a fagocitose dos parasitas por macrófagos e neutrófilos, enquanto a ativação do sistema complemento leva a lise direta dos tripomastigotas, consequentemente, reduzindo a carga parasitária, assim como encontrado nos animais imunizados (Bassi et al., 2018). Esses mecanismos sinérgicos permitem explicar por que os bovinos imunizados apresentaram sintomatologia mais branda e restabeleceram os níveis eritrocitários até o final do experimento, ao contrário dos animais não vacinados.

7 CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos até o presente momento pode-se concluir que:

- A formulação vacinal (PRqTv+ adj) é inócua, não gera sinais clínicos adversos em bovinos imunizados e não interfere nos parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos.
- A formulação vacinal não promove soroconversão de IgG anti-*T. vivax* no período de imunização, o que sugere que a resposta humoral específica requer estímulo antigênico adicional para atingir níveis detectáveis.
- A formulação vacinal não é esterilizante, mas permite que animais imunizados tenham menor intensidade de anemia e alterações hepáticas, e apresentem resposta hematológica mais efetiva frente à infecção experimental.
- A resposta sorológica manteve-se elevada após o desafio, demonstrando persistência da memória imunológica e potencial para proteção duradoura.
- A formulação vacinal não induz proteção esterilizante, mas induz soroconversão mais precoce, o que minimiza os efeitos adversos da tripanossomíase, e representa um avanço relevante na busca por imunógenos eficazes contra a tripanossomose bovina.

REFERÊNCIAS

- ALCINDO, J. F. et al. Evaluation of techniques for diagnosis of *Trypanosoma vivax* infections in naturally infected cattle in the Zona da Mata Mineira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 31, p. e018021, 25 fev. 2022.
- ALIYU, M. et al. Haematological and Serum Biochemical Parameters in naturally occurring cases of Bovine Trypanosomiasis in North Central Nigeria. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, v. 74, n. 1, p. 125, 2022.
- ALMEIDA, K. S. et al. ASPECTOS HEMATOLÓGICOS DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Trypanosoma vivax* EM OVINOS. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, v. 9, n. 4, p. 1121–1127, 21 dez. 2008.
- ALMEIDA, K. S. et al. ALTERAÇÕES CLÍNICAS, HISTOPATOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR *Trypanosoma vivax*. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, v. 11, n. 3, p. 669 676-669 676, 2 out. 2010.
- ALVES, W. P. et al. Comparison of three methods for diagnosis of *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* in cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 4, 21 out. 2017.
- ANGARA; ISMAIL; IBRAHIM. An Overview on the Economic Impacts of Animal Trypanosomiasis. **Global Journal For Research Analysis**, v. 3, n. 7, p. 275–276, 15 jun. 2012.
- AOSHIBA, K. et al. Red Blood Cells Inhibit Apoptosis of Human Neutrophils. **Blood**, v. 93, n. 11, p. 4006–4010, 1 jun. 1999.
- AUTHEMAN, D. et al. **An invariant *Trypanosoma vivax* vaccine antigen inducing protective immunity | bioRxiv.** Disponível em: <<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.02.10.430711v1.full>>. Acesso em: 5 fev. 2025.
- BAKARI, S. M. et al. Serum biochemical parameters and cytokine profiles associated with natural African trypanosome infections in cattle. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 312, 27 jun. 2017.
- BARAL, T. N. Immunobiology of African Trypanosomes: Need of Alternative Interventions. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2010, p. 389153, 2010.
- BARRETT, M. P. et al. Trypanosome glucose transporters. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 91, n. 1, p. 195–205, 1 mar. 1998.
- BASSI, P. B. et al. Parasitological and immunological evaluation of cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Experimental Parasitology**, v. 185, p. 98–106, fev. 2018.
- BASTOS, T. S. A. et al. First outbreak and subsequent cases of *Trypanosoma vivax* in the state of Goiás, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, p. 366–371, 29 jun. 2017.

- BASTOS, T. S. A. et al. Infection capacity of *Trypanosoma vivax* experimentally inoculated through different routes in bovines with latent *Anaplasma marginale*. **Experimental Parasitology**, v. 211, p. 107861, 1 abr. 2020.
- BATISTA, J. S. et al. 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, 31 jan. 2007.
- BATISTA, J. S. et al. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 63–69, jan. 2008.
- BATISTA, J. S. et al. Highly debilitating natural *Trypanosoma vivax* infections in Brazilian calves: epidemiology, pathology, and probable transplacental transmission. **Parasitology Research**, v. 110, n. 1, p. 73–80, jan. 2012.
- BATISTA, J. S. et al. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, p. 31–37, mar. 2006.
- BATISTA, J. S. et al. Risk factors for trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle raised in Rio Grande do Norte state. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, p. e0232016, 2 ago. 2018.
- BOMA, S. et al. In vivo analysis of trypanocidal drug resistance in sahelian goats infected by *Trypanosoma vivax* strains collected in northern Togo. **Veterinary Parasitology**, v. 306, p. 109723, jun. 2022.
- CADIOLI, F. A. et al. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 118–124, jun. 2012.
- CADIOLI, F. A. et al. Detection of *Trypanosoma vivax* using PCR and LAMP during aparasitemic periods. **Veterinary Parasitology**, v. 214, n. 1–2, p. 174–177, 30 nov. 2015.
- CASTELLI, G. S. N. et al. *Trypanosoma vivax*: uma breve revisão / *Trypanosoma vivax*: a brief review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 11, p. 109155–109171, 26 nov. 2021.
- CASTILHO NETO, K. J. G. de A. et al. Follow-up of dairy cattle naturally infected by *Trypanosoma vivax* after treatment with isometamidium chloride. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, p. e020220, 26 abr. 2021.
- CHAMOND, N. et al. *Trypanosoma vivax* Infections: Pushing Ahead with Mouse Models for the Study of Nagana. I. Parasitological, Hematological and Pathological Parameters. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 8, p. e792, 10 ago. 2010.
- CONSTABLE, P. D. et al. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. [S.l.]: Elsevier Health Sciences, 2016.
- COSTA, R. V. C. et al. Parasitological and clinical-pathological findings in twelve outbreaks of acute trypanosomiasis in dairy cattle in Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 22, p. 100466, 1 dez. 2020.
- COUTO, L. F. M. et al. In vitro and in vivo effectiveness of disinfectants against *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports**, v. 25, p. 100587, jul. 2021.

- COUTO, L. F. M. et al. Presence of *Trypanosoma vivax* DNA in cattle semen and reproductive tissues and related changes in sperm parameters. **Veterinary Parasitology**, v. 309, p. 109761, 1 set. 2022.
- COUTO, L. F. M. et al. Reproductive, productive and financial consequences of chronic *Trypanosoma vivax* infection in a dairy cattle herd in a region without a cyclic vector. **Veterinary Parasitology**, v. 330, p. 110221, 1 ago. 2024.
- CUGLOVICI, D. A. et al. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 3, p. 320–326, 11 maio 2010.
- DA SILVA, A. S. et al. *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle: Parasitological and serological diagnosis and its relationship with the percentage of red blood cells. **Microbial Pathogenesis**, v. 166, p. 105495, maio 2022.
- DAGNACHEW, S. et al. Comparative clinico-haematological analysis in young Zebu cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax* isolates from tsetse infested and non-tsetse infested areas of Northwest Ethiopia. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, n. 1, p. 24, 19 maio 2015.
- DÁVILA, A.; RAMIREZ, L.; SILVA, R. Morphological and Biometrical Differences among *Trypanosoma vivax* Isolates from Brazil and Bolivia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 3, p. 357–358, maio 1997.
- DE MELLO, M. F. et al. Efficacy of LaAg Vaccine Associated with Saponin Against *Leishmania amazonensis* Infection. **Vaccines**, v. 13, n. 2, p. 129, 27 jan. 2025.
- DE MELO JUNIOR, R. D. et al. How many cattle can be infected by *Trypanosoma vivax* by reusing the same needle and syringe, and what is the viability time of this protozoan in injectable veterinary products? **Parasitology**, v. 149, n. 2, p. 270–282, 2021.
- DE MENDONÇA, D. R. et al. First record of a possible trypanotolerant cattle breed in Latin America: Parasitological, serological, and clinical aspects. **Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports**, v. 54, p. 101090, set. 2024.
- DE OLIVEIRA REIS, M. et al. Epizootic Infection by *Trypanosoma vivax* in Cattle from the State of Minas Gerais, Brazil. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 57, n. 2, p. 191–195, abr. 2019.
- DESQUESNES, M. **Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America**. Paris: OIE, 2004.
- DESQUESNES, M, et al. A review on the diagnosis of animal trypanosomoses. **Parasites & Vectors**, v. 15, p. 64, 19 fev. 2022.
- DESQUESNES, M.; DIA, M. L. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. **Veterinary Parasitology**, v. 119, n. 1, p. 9–19, 5 jan. 2004.
- DINC, R. *Leishmania* Vaccines: the Current Situation with Its Promising Aspect for the Future. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 60, n. 6, p. 379–391, dez. 2022.

- DUXBURY, R. E. et al. Trypanosoma congolense: immunization of mice, dogs, and cattle with gamma-irradiated parasites. **Experimental Parasitology**, v. 32, n. 3, p. 527–533, dez. 1972.
- EDMONSON, A. J. et al. A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68–78, 1 jan. 1989.
- ESFANDIARI, A. et al. Protein Fraction Profiles on Dry Holstein Cows Vaccinated Using H5N1 Avian Influenza Vaccine. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 478, n. 1, p. 012021, abr. 2020.
- ESIEVO, K. A. N.; SAROR, D. I. Leukocyte response in experimental *Trypanosoma vivax* infection in cattle. **Journal of Comparative Pathology**, v. 93, n. 2, p. 165–169, 1 abr. 1983.
- ESPINOZA, E. et al. Leucogram in heifers and calves (Holstein) infected with a venezuelan strain of *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 647–652, mar. 2000.
- ESPINOZA, E.; PRIMERA, G. Valores de transaminasas en cabras criollas infectadas con *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 103–107, jan. 2002.
- EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Guideline on target animal safety for veterinary pharmaceutical products** (Ref. EMEA/CVMP/VICH/393388/2006). London: European Medicines Agency, 2008. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/vich-gl43-target-animal-safety-veterinary-pharmaceutical-products-step-7_en.pdf. Acesso em: 01/11/2025.
- FAGLIARI, J. J. et al. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raça Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo brasileiro medicina veterinária zootecnia**, p. 253–62, 1998
- FAN, J. et al. Advances in Infectious Disease Vaccine Adjuvants. **Vaccines**, v. 10, n. 7, p. 1120, jul. 2022.
- FELIPE, C. F. R.; KATAOKA, A. Bovine Trypanosomiasis: a brief review. **Scientific Electronic Archives**, v. 12, n. 1, p. 159–168, 4 fev. 2019.
- FERNANDEZ-NOVO, A. et al. The Effect of Stress on Reproduction and Reproductive Technologies in Beef Cattle—A Review. **Animals : an Open Access Journal from MDPI**, v. 10, n. 11, p. 2096, 11 nov. 2020.
- FETENE, E. et al. Global distribution, host range and prevalence of *Trypanosoma vivax*: a systematic review and meta-analysis. **Parasites & Vectors**, v. 14, p. 80, 25 jan. 2021.
- FIDELIS JUNIOR, O. L. et al. Evaluation of clinical signs, parasitemia, hematologic and biochemical changes in cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, p. 69–81, 18 mar. 2016.
- FRANGE, R. C. da C. et al. TRIPANOSSOMÍASE EM VACAS DA MICRORREGIÃO DE UBERABA – MG: ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO. **Anais do Encontro de Pesquisa em Educação e Congresso Internacional de Trabalho Docente e Processos Educativos**, v. 1, n. 1, p. 3–3, 24 out. 2013.

- FRITZEN, A. et al. Outbreak of *Trypanosoma vivax* in Dairy Cows: Hematologic, Immunological and Antioxidant Responses Before and After Treatment with Isometamidium Chloride. **Pathogens**, v. 14, n. 2, p. 143, fev. 2025.
- GAIDI, G. et al. New Acylated Triterpene Saponins from *Silene fortunei* that Modulate Lymphocyte Proliferation. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 11, p. 1568–1572, 1 nov. 2002.
- GARDINER, P. R. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. **Advances in Parasitology**, v. 28, p. 229–317, 1989.
- GIORDANI, F. et al. Veterinary trypanocidal benzoxaboroles are peptidase-activated prodrugs. **PLOS Pathogens**, v. 16, n. 11, p. e1008932, 3 nov. 2020.
- GOMES, J. C. DOS S. **Contribuições para o diagnóstico sorológico da tripanossomíase bovina No Estado Da Bahia**. 2025. 116f. Dissertação (Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2025.
- GONZÁLEZ-MONTAÑA, J. R. et al. Relationship between Vitamin B12 and Cobalt Metabolism in Domestic Ruminant: An Update. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1855, 12 out. 2020.
- HAPPI, A. N.; ANTIA EDEN, R.; MILNER, D. A. *Trypanosoma brucei*-Induced apoptosis of leucocytes as a factor of trypanosusceptibility in infected goats. **Tropical Biomedicine**, v. 33, n. 2, p. 209–225, 1 jun. 2016.
- HAPPI, A. N.; MILNER, D. A.; ANTIA, Richard E. Blood and Tissue Leukocyte Apoptosis in *Trypanosoma brucei* Infected Rats. **Journal of Neuroparasitology**, v. 3, p. 1–10, 2012.
- HELLER, L. M. et al. Evaluation of mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* by *Stomoxys calcitrans* in a region without a cyclic vector. **Parasitology Research**, v. 123, n. 1, p. 96, 15 jan. 2024.
- HILL, E. W. et al. Understanding bovine trypanosomiasis and trypanotolerance: the promise of functional genomics. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 105, n. 3–4, p. 247–258, 15 maio 2005.
- HORN, D. Antigenic variation in African trypanosomes. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Special Issue on the 35th Anniversary of Molecular and Biochemical Parasitology. v. 195, n. 2, p. 123–129, 1 jul. 2014.
- IGBOKWE, I. O.; ANOSA, V. O. Leucopenia in *Trypanosoma vivax* infection of sheep. **Revue D'élevage Et De Medecine Veterinaire Des Pays Tropicaux**, v. 42, n. 2, p. 219–221, 1989.
- JURKOVICH, V.; HEJEL, P.; KOVÁCS, L. A Review of the Effects of Stress on Dairy Cattle Behaviour. **Animals**, v. 14, n. 14, p. 2038, 11 jul. 2024.
- KADIMA, K. B. et al. Serum biochemical values of *Trypanosoma vivax*-infected cattle and the effects of lactose in saline infusion. **Veterinarski arhiv**, v. 70, n. 2, p. 67–74, 22 abr. 2000a.
- KADIMA, K. B. et al. Serum biochemical values of *Trypanosoma vivax*-infected cattle and the effects of lactose in saline infusion. **Veterinarski arhiv**, v. 70, n. 2, p. 67–74, 22 abr. 2000b.

- KASOZI, K. I. et al. An Update on African Trypanocide Pharmaceutics and Resistance. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 828111, 7 mar. 2022.
- KATSOGIANNOU, E. G. et al. Diagnostic approach of anemia in ruminants. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 69, n. 3, p. 1033–1046, 10 out. 2018.
- KATUNGUKA-RWAKISHAYA, E. Influence of *Trypanosoma congolense* infection on some blood inorganic and protein constituents in sheep. **Revue D'élevage Et De Médecine Veterinaire Des Pays Tropicaux**, v. 49, n. 4, p. 311–314, 1996.
- KOENNEKER, K. et al. Comparative Assessment of the Stress Response of Cattle to Common Dairy Management Practices. **Animals**, v. 13, n. 13, p. 2115, 26 jun. 2023.
- LA GRECA, F.; MAGEZ, S. Vaccination against trypanosomiasis: can it be done or is the trypanosome truly the ultimate immune destroyer and escape artist? **Human Vaccines**, v. 7, n. 11, p. 1225–1233, nov. 2011.
- LAGE, D. P. et al. A Recombinant Chimeric Protein-Based Vaccine Containing T-Cell Epitopes from Amastigote Proteins and Combined with Distinct Adjuvants, Induces Immunogenicity and Protection against *Leishmania infantum* Infection. **Vaccines**, v. 10, n. 7, p. 1146, 19 jul. 2022.
- LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. Book Review: Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 2, p. 199–199, 1 mar. 2004.
- LEAL, L. et al. First study confirming the transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle through rectal palpation: how many animals can be infected by reusing the same procedure glove, and what role does iodine play as a disinfectant? **Veterinary research communications**, v. 49, n. 2, 29 jan. 2025.
- LEVINE, N. D. **Protozoan parasites of domestic animals and of man : Levine, Norman D : Free Download, Borrow, and Streaming: Internet Archive**. Disponível em: <<https://archive.org/details/protozoanparasit00levi>>. Acesso em: 5 fev. 2025.
- LINHARES, G. F. C. et al. TRIPANOSSOMÍASE EM BOVINOS NO MUNICÍPIO DE FORMOSO DO ARAGUAIA, TOCANTINS (relato de caso). **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, v. 7, n. 4, p. 455–460, 25 dez. 2006.
- LOPES, S. T. P. et al. *Trypanosoma vivax* em bovino leiteiro. **Acta Scientiae Veterinariae. (Online)**, p. 1–5, 2018.
- LUBEGA, G. W.; BYARUGABA, D. K.; PRICHARD, R. K. Immunization with a tubulin-rich preparation from *Trypanosoma brucei* confers broad protection against African trypanosomosis. **Experimental Parasitology**, v. 102, n. 1, p. 9–22, set. 2002.
- MASEBO, N. T. et al. Health and welfare assessment of beef cattle during the adaptation period in a specialized commercial fattening unit. **Research in Veterinary Science**, v. 158, p. 50–55, maio 2023.
- MCGAVIN, D. **Bases da patologia em veterinária 4a edição**. [S.l.]: Elsevier Brasil, 2009.

MKUNZA, F.; OLAHO, W. M.; POWELL, C. N. Partial protection against natural trypanosomiasis after vaccination with a flagellar pocket antigen from *Trypanosoma brucei rhodesiense*. **Vaccine**, v. 13, n. 2, p. 151–154, fev. 1995.

MOURA, D. M. de et al. PERFIL HEMATOLÓGICO DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, p. 648–653, 20 out. 2009.

MURRAY, M.; MURRAY, P. K.; MCINTYRE, W. I. M. Improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis | **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, Oxford Academic**. Disponível em: <<https://academic.oup.com/trstmh/article-abstract/71/4/325/1928771>>. Acesso em: 11 fev. 2025.

MUSAYA, J. et al. Role of cytokines in *Trypanosoma brucei*-induced anaemia: A review of the literature. **Malawi Medical Journal**, v. 27, n. 2, p. 45–50, jun. 2015.

NAESSENS, J. et al. 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.

NASCIMENTO, I. P.; LEITE, L. C. C. Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, p. 1102–1111, dez. 2012.

NETO, A. Q. de A. et al. Diagnóstico, aspectos clínicos e epidemiológicos de bovinos leiteiros naturalmente infectados por *Trypanosoma vivax* nos estados de Pernambuco e Alagoas, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 41, n. 1, p. e094319–e094319, 13 abr. 2019.

OLIVEIRA, M. P. **Repositório Institucional da UFMG: Avaliação de proteína quimérica recombinante mais adjuvante como candidata à vacina contra Leishmaniose Visceral**. Disponível em: <<https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/78116>>. Acesso em: 10 fev. 2025.

OSÓRIO, A. L. A. R. et al. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 1–13, fev. 2008a.

OSÓRIO, A. L. A. R. et al. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 1–13, fev. 2008b.

OSTOLIN, T. L. V. D. P. et al. A chimeric vaccine combined with adjuvant system induces immunogenicity and protection against visceral leishmaniasis in BALB/c mice. **Vaccine**, v. 39, n. 20, p. 2755–2763, 12 maio 2021.

PANDOLFI, I. A. et al. The seasonality as a relevant aspect to be considered for differential diagnosis of *Trypanosoma vivax* infection and co-infections in female cattle. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 109, p. 102180, jun. 2024.

PARRA-GIMENEZ, N.; REYNA-BELLO, A. Parasitological, Hematological, and Immunological Response of Experimentally Infected Sheep with Venezuelan Isolates of *Trypanosoma evansi*, *Trypanosoma equiperdum*, and *Trypanosoma vivax*. **Journal of Parasitology Research**, v. 2019, p. 8528430, 2019.

- PEREIRA, H. D. et al. Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico da infecção por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 896–901, maio 2018.
- PETROVSKY, N.. Freeing vaccine adjuvants from dangerous immunological dogma. **Expert Review of Vaccines**, v. 7, n. 1, p. 7–10, 1 fev. 2008.
- PETROVSKY, N. Comparative Safety of Vaccine Adjuvants: A Summary of Current Evidence and Future Needs. **Drug Safety**, v. 38, n. 11, p. 1059–1074, 2015.
- RADOSTITS, O. M. et al. **Reference laboratory values**. In: RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P.D. *Veterinary Medicine*. Philadelphia: Saunders, 10.ed. 2007, p. 2065.
- RAMIREZ-BARRIOS, R. et al. *Trypanosoma vivax* infection in sheep: Different patterns of virulence and pathogenicity associated with differentially expressed proteomes. **Veterinary Parasitology**, v. 276S, p. 100014, 2019.
- REIS, R. A. et al. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 147–159, jul. 2009.
- SCHENK, M. A. M. et al. Avaliação clínico-laboratorial de bovinos Nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 157–161, dez. 2001.
- SERRA, T. B. R. et al. Serological and molecular diagnosis of *Trypanosoma vivax* on buffalos (*Bubalus bubalis*) and their ectoparasites in the lowlands of Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 33, p. e003424, 28 out. 2024.
- SILVA, A. S. da et al. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2550–2554, nov. 2009a.
- SILVA, A. S. da et al. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2550–2554, nov. 2009b.
- SILVA, L. C. da et al. Avaliação da capacidade adjuvante do cloreto de dimetildiocetadecilamônio associado ao hidróxido de alumínio na indução da resposta imune humoral de bovinos vacinados com o vírus da diarreia viral bovina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 201–206, jun. 2004.
- SILVA PEREIRA, S. et al. Variant antigen diversity in *Trypanosoma vivax* is not driven by recombination. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 844, 12 fev. 2020.
- SILVA, R. A. M. S. et al. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 561–562, out. 1996.
- SOW, A. et al. Field detection of resistance to isometamidium chloride and diminazene aceturate in *Trypanosoma vivax* from the region of the Boucle du Mouhoun in Burkina Faso. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 1, p. 105–111, 8 jun. 2012.

STIJLEMANS, B. et al. African Trypanosomiasis-Associated Anemia: The Contribution of the Interplay between Parasites and the Mononuclear Phagocyte System. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 218, 15 fev. 2018.

TAMBARA, A. A. C. et al. Effects of supplementation on production of beef cattle grazing tropical pastures in Brazil during the wet and dry seasons: a meta-analysis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 50, p. e20210020, 2021.

TAYLOR, K. A. Immune responses of cattle to African trypanosomes: protective or pathogenic? **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 2, p. 219–240, fev. 1998a.

TAYLOR, A. Immune responses of cattle to African trypanosomes: protective or pathogenic? **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 2, p. 219–240, 1 fev. 1998b.

UNGOGO, M. A.; DE KONING, H. P. Drug resistance in animal trypanosomiasis: Epidemiology, mechanisms and control strategies. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 25, p. 100533, 30 mar. 2024.

VIEIRA, O. L. Eloi et al. 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, p. 516–520, 30 out. 2017.

VITORIANO-SOUZA, J. et al. Cell recruitment and cytokines in skin mice sensitized with the vaccine adjuvants: saponin, incomplete Freund's adjuvant, and monophosphoryl lipid A. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e40745, 2012.

WELLS, P. W. et al. Immunization of cattle with a variant-specific surface antigen of *Trypanosoma brucei*: influence of different adjuvants. **Infection and Immunity**, v. 36, n. 1, p. 1–10, abr. 1982.

ANEXO A – CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL (UNIUBE)**Uniube**

Comitê de Ética em Experimentação Animal

Ofício CEEA-006/2022

Uberaba, 31 de agosto de 2022

Ilmo. Prof.

JOELY FERREIRA FIGUEIREDO BITTAR

Assunto: Encaminha processo nº 005/2022, sobre o protocolo de projeto de pesquisa "*Avaliação de uma proteína recombinante quimérica utilizada como imunizante contra infecção experimental pelo trypanosoma vivax em bovinos doadores de sêmen*".

Prezado (a) Professor(a),

Em resposta a sua solicitação, informo que o protocolo acima referido foi submetido a avaliação do CEEA-UNIUBE, em reunião no dia 26/08/2022, sendo considerado **aprovado**.

Atenciosamente,

Profa. Joely F. Figueiredo Bittar

Coordenadora do CEEA-UNIUBE