

PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *Trypanosoma evansi* E *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS DA RAÇA CRIOULA LAGEANA

Leonardo Bergmann Griebeler¹, Joandes Henrique Fonteque², Luiz Cláudio Miletti³, Carla Ivane Ganz Vogel³, Anderson Barbosa de Moura³, Mere Erika Saito³, Felipe Fiorin⁴, Mariana da Silva Casa⁴

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária – CAV – Bolsista PROBIC/UDESC

² Orientador, Departamento de Medicina Veterinária – CAV – joandes.fonteque@udesc.br

³ Professor Participante do Departamento de Medicina veterinária - CAV

⁴ Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – CAV

O *Trypanosoma vivax* e *Trypanosoma evansi* são espécies de tripanossomatídeos que se distribuem pela África, América Latina e Ásia, sendo parasitas que causam risco potencial para saúde de bovinos, búfalos e equinos na América do Sul. Grande parte dos estudos epidemiológicos sobre infecções de tripanossomatídeos em bovinos são baseados em surtos. Dessa maneira há uma escassez na literatura de estudos epidemiológicos sobre a situação dessa enfermidade no território brasileiro, e inclusive em Santa Catarina. Assim, objetivo do presente trabalho é determinar a prevalência e os fatores associados a infecção por *T. vivax* e *T. evansi* em bovinos da raça Crioula Lageana, utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR) e correlacionar os resultados com as variáveis clínicas e hematológicas.

Foram utilizados 310 bovinos machos e fêmeas, jovens e adultos da raça Crioula Lageana registrados na Associação Brasileira dos Criadores de Bovinos da Raça Crioula Lageana (ABCCL). Foi realizado a avaliação dos animais através de exame físico e amostras de sangue coletadas por venopunção da jugular externa em tubos a vácuo contendo anticoagulante EDTA 10% para realização do perfil hematológico através da contagem total de eritrócitos e leucócitos, hematócrito, concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), contagem de plaquetas e contagem diferencial de leucócitos, concentração de proteína total plasmática e fibrinogênio plasmático. Os tubos foram armazenados e refrigerados, onde cada amostra foi dividida em duas alíquotas. Uma alíquota foi destinada para realização dos exames hematológicos e a outra para a pesquisa dos agentes através da PCR. O hemograma foi realizado pelo método hemocitométrico e esfregaços sanguíneos corados com panótico rápido para a contagem diferencial de leucócitos. Para a observar os esfregaços sanguíneos, utilizou-se um microscópio óptico com objetiva de imersão (100x). A fim de determinar os valores de proteína total plasmática foi utilizado o método da refratometria (refratômetro ATTAGO Co) e a mensuração do fibrinogênio plasmático através da precipitação pelo calor. O volume globular (VG) foi estimado pelo método de microhematócrito. A concentração de hemoglobina foi avaliada através do Theratio Plate® utilizando o kit reagente de cor Bioclin. Para realizar as análises bioquímicas coletou-se amostras sem anticoagulante. Dessa maneira, realizou-se a avaliação da atividade enzimática da gamaglutamiltransferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), alanino aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), creatina fosfoquinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH). Também se mensurou as concentrações séricas de ureia, creatinina, proteína total sérica, albumina, globulina, colesterol e triglicerídeos. Foi realizado a PCR para amplificar o DNA genômico extraído das amostras de sangue e controle positivo, utilizando micro tubos de 0,2mL onde foi adicionado 25µL de solução, contendo 1U de enzima Taq

Polimerase GoTaq® Hot Start Polymerase (Promega); 8,5 pmoles de cada par de primer; 0,2mM de nucleotídeos (dNTPs); 3,25mM de cloreto de magnésio; 5µL de tampão 5X Green GoTaq® Flexi Buffer (Promega); 3µL de DNA (concentração entre 20 e 100ng/µL) e água ultra. Realizou-se um controle negativo afim de aumentar a qualidade e especificidade da técnica, utilizando o mesmo protocolo citado anteriormente, apenas substituindo o uso de DNA genômico por água ultra pura. A amostra foi inserida no termociclador (Biocycler), passando por uma desnaturação inicial a 94°C por cinco minutos, em seguida 30 ciclos de 94°C por 1 minuto, 60°C por 1 minuto e 73°C por 1 minuto para *T. evansi*, e 30 ciclos de 94°C por 1 minuto, 66°C por 1 minuto e 73°C por 1 minuto para *T. vivax*, com uma extensão final a 73°C por 7 minutos. Os produtos da amplificação passaram pela eletroforese em uma cuba horizontal contendo gel de agarose a 3% com 1 µL de corante Unisafe Dye e 1 µL de tampão. Um marcador de peso molecular de 100pb foi inserido na primeira lacuna do gel como padrão afim de determinar o tamanho das bandas da amostra. O gel passou por uma fonte elétrica de 100 Volts por 40 minutos e visualização através de luz ultravioleta. O projeto ainda passará por um questionário epidemiológico para determinação dos fatores associados a cada infecção por *T. vivax* e *T. evansi*. A estatística foi composta pelo teste de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade. A fim de comparar as médias das variáveis clínicas, hematológicas e bioquímicas entre animais positivos e negativos, foi utilizado o teste t para dados paramétricos e o teste de Mann-Whitney para os não paramétricos. Admitiu-se probabilidade de erro de 5% para todos os testes. Para os dados do questionário o modelo estatístico a ser aplicado será a análise univariada, através do teste de qui-quadrado ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados obtidos, observou-se prevalência de 8% de animais parasitados por *T. evansi* e nenhum animal positivo para *T. vivax* foi identificado, sendo assim as regiões classificadas como de instabilidade enzoótica para *T. evansi*. Houve diferenças entre positivos e negativos para *T. evansi* com relação a GGT, movimentos ruminais, monócitos e eosinófilos. Animais positivos para *T. evansi* apresentaram valores de GGT acima do intervalo de referência. A enzima gama-glutamiltransferase (GGT) está presente nos canalículos hepáticos, dessa maneira um aumento em sua atividade sérica pode estar correlacionado com uma degeneração gordurosa dos hepatócitos e posteriormente necrose. Com relação ao leucograma, animais negativos para *T. evansi* apresentaram leucocitose por linfocitose. Também se observou resultados para valores de AST, ureia, PST, albumina, globulinas, colesterol total, triglicerídeos, CK e frequência cardíaca fora dos intervalos de referência, entretanto não podemos atribuir essas alterações com a presença ou a ausência de infecção por *Trypanosoma evansi*. Dessa maneira, conclui-se que a prevalência para *T. evansi* e *T. vivax* em bovinos da raça Crioula Lageana é baixa, sendo classificada como uma região de instabilidade enzoótica.

Palavras-chave: Bovinos; Crioula Lageana; Prevalência.