



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**TRIPANOSSOMÍASE POR *TRYPANOSOMA VIVAX* EM PEQUENOS  
RUMINANTES: DESCRIÇÃO DE SURTOS E INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL DA DOENÇA**

ERIKA DE SOUZA PAIVA

Médica Veterinária

MOSSORÓ – RN – BRASIL  
Agosto – 2009

ERIKA DE SOUZA PAIVA

**TRIPANOSSOMÍASE POR *TRYPANOSOMA VIVAX* EM PEQUENOS  
RUMINANTES: DESCRIÇÃO DE SURTOS E INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL DA DOENÇA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Jael Soares Batista - UFERSA

MOSSORÓ – RN – BRASIL  
Agosto - 2009

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e catalogação da  
Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFERSA**

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P149t | Paiva, Érika de Souza.<br>Tripanossomíase por <i>Trypanosoma vivax</i> em pequenos ruminantes: descrição de surtos e infecção experimental da doença / Érika de Souza Paiva. -- Mossoró, 2009.<br><br>83f.:il.<br><br>Dissertação (Mestrado em Ciência Animal - Área de concentração Sanidade e Produção Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação.<br>Orientador: Prof. D.Sc. Jael Soares Batista.<br><br>1.Pequenos ruminantes. 2.Tripanossomíase.<br>3. <i>Trypanosoma vivax</i> . I.Título.<br><br>CDD: 636.3 |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

ERIKA DE SOUZA PAIVA

**TRIPANOSSOMÍASE POR *TRYPANOSOMA VIVAX* EM PEQUENOS  
RUMINANTES: DESCRIÇÃO DE SURTOS E INFECÇÃO  
EXPERIMENTAL DA DOENÇA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do  
Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte  
das exigências para a obtenção do título de Mestre em  
Ciência Animal.

APROVADA EM \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Jael Soares Batista (UFERSA)

Orientador

---

Prof. Dr. Aldo da Cunha Medeiros (UFRN)

Primeiro Conselheiro

---

Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas (UFERSA)

Segundo Conselheiro

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**ERIKA DE SOUZA PAIVA** – Nascida em 28 de maio de 1982, na cidade de São Paulo- SP. Graduada em Medicina Veterinária no ano de 2006, pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Durante a sua vida acadêmica, estagiou no Laboratório de Microbiologia, no Laboratório de Bioagentes Patogênicos e Imunologia. Participou de congressos como o XXXI COMBRAVET e o I Congresso Norte-Nordeste de Zoonoses e Bem-Estar Animal. Possui trabalhos acadêmicos na área de Microbiologia, Animais Silvestres, Patologia, Zoonoses e Inspeção de Alimentos de Origem Animal. Concluiu a sua graduação sob a orientação do Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas, com o título: Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Hemolinfa da Aranha Caranguejeira do Nordeste *Lasiodora parahybana* (Araneae: Theraphosidae). Atualmente tem como principal área de pesquisa a atividade antimicrobiana e cicatrizante de plantas e óleos essenciais das regiões norte e nordeste do Brasil, bem com na área de Patologia Veterinária.

**Ao meu AMOR MAIOR, meu TUDO,  
minha VIDA, meu REDENTOR, minha  
ROCHA, minha FORÇA e a minha  
SALVAÇÃO. Ao meu SENHOR JESUS  
CRISTO DEDICO este trabalho.**

**Aos meus Pais, que foram comigo  
em todos os momentos. Vocês também  
fazem parte desse trabalho. “Honra teu  
Pai e tua Mãe, para que se prolonguem  
os teus dias na Terra que o Senhor  
Deus te dá”(Ex 20:12).**

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer ao meu DEUS, ao qual eu amo e vou amar para sempre. Sem ELE, com certeza não estaria aqui fazendo esses agradecimentos, nem concluindo esse trabalho. Ao SENHOR minha eterna gratidão e devoção, pois com ELE eu sou mais do que vencedora!

Aos meus pais Orivete Paiva da Silva e Alzerina de Souza Paiva, pelo amor e dedicação que tem por mim. Vocês são exemplos de dedicação, humildade, honestidade e amor. Se eu sou um ser humano melhor, é por causa de vocês. Amo vocês! Obrigada por tudo! Agradeço também ao meu irmão Wesley de Souza Paiva, pela força e por acreditar em mim! Amo você, maninho!

Ao Coordenador do curso de pós-graduação em Ciência Animal, o professor Alex Sandro Campos Maia pelo incentivo e o apoio que me deu para o término deste trabalho;

Agradeço ao orientador e amigo, o professor Jael Soares Batista, por ter me aceitado como orientada.

Ao professor Carlos Iberê Alves Freitas, pelos ensinamentos e colaboração neste trabalho. Muito obrigada pela amizade e companheirismo, meu eterno “Paizinho”!

Ao professor Dr. Aldo da Cunha Medeiros, por aceitar fazer parte da banca examinadora.

A minha irmã de coração Andréia Freitas de Oliveira, por estar comigo em todos os momentos, tanto felizes como tristes... agora a nossa vitória está completa! Não esqueça: vamos escrever nossa história, uma história de superação... adoro você!

As minhas amigas Elione Paulino Duarte e Elionai Paulino pela torcida e o amor que sentem por mim. Quero dizer que amo vocês também. Obrigada pela amizade de vocês.

A Valesca Barreto Luz, Paula Tatiana e Mara Raquel Silva que apesar da distância continuamos amigas, pois para uma verdadeira amizade não há distância que separe. Amo vocês!

Aos meus amigos do mestrado: Ana Carla Suassuna, Paulo Moisés, Andréa Zilá, Maria Alice, Isabella, Leíse, Gabriela, Máira, Keila, Francisco Vítor, Caio Riketh, Hilton Felipe, André, Klívio, Luciene pelos bons momentos que passamos. Vocês são 10!

Aos meus bichinhos: Bela, Betoven (*in memorian*), Pepy, Myleide, Cassandra, Fred, Ricky, Dimitri e Nico, pelos maravilhosos momentos que passamos juntos!

Tanto que eu lutei...tanto que eu chorei  
Mas enfim não me entreguei, eu nunca estive só  
Milagres eu vivi...em meio à sequidão  
Mesmo eu prostrado ao chão, minha fé não entreguei  
DEUS em minha vida foi sobrenatural  
Fez da minha história além do que eu sonhei  
Hoje em meus dias entendo quem eu sou  
Servo do DEUS VIVO, menina dos teus olhos  
A desejada noiva do SENHOR  
Eu aceito SENHOR o teu tempo  
Todo teu, oh SENHOR é meu tempo  
Tua vontade é o que eu mais quero oh DEUS fiel...

***Fernanda Brum***

## **TRIPANOSSOMÍASE POR *TRYPANOSOMA VIVAX* EM PEQUENOS RUMINANTES: DESCRIÇÃO DE SURTOS E INFECÇÃO EXPERIMENTAL DA DOENÇA**

PAIVA, Erika de Souza. **Tripanossomíase por *Trypanosoma vivax* em pequenos ruminantes: descrição de surtos e infecção experimental da doença.** 2009. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Produção e Sanidade Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2009.

**RESUMO:** Este trabalho avaliou surtos de tripanossomíase por *T. vivax* que ocorreu em quatro rebanhos de pequenos ruminantes em três municípios do alto sertão da Paraíba em 2008 e reproduziu a doença experimentalmente em caprinos e ovinos, a fim de relacionar as lesões cardíacas e do sistema nervoso central com o parasita. Para análise estatística foi realizado o teste de Tukey (SAS) e o Qui-quadrado (Epi Info 6.0). A avaliação da infecção natural foi realizada no primeiro (surto 1) e segundo (surto 2) semestre de 2008, quando foram registrados os sinais clínicos, parasitemia, temperatura retal, hematócrito e escore corporal. Foram escolhidos 20% de caprinos e ovinos adultos de cada rebanho. Foi observado que no surto 1, a parasitemia foi significativamente maior que no surto 2 para ambas as espécies, sugerindo uma fase aguda e crônica da doença. Houve também uma relação significativa entre a parasitemia, a temperatura, o hematócrito e o escore corporal em caprinos e ovinos. A anemia é o sinal clínico mais evidente na enfermidade, seguida da perda de peso. Ao exame da PCR, foram verificados que todos os animais avaliados possuíam o parasita no sangue. Para avaliar a relação das lesões cardíacas com o *T. vivax* foram utilizados 14 ovinos machos, SRD, dispostos em 3 grupos, sendo G1 os animais avaliados até o 20º dpi (dias pós-infecção), o G2, animais avaliados até o 90º dpi e o G3 que é o grupo controle, correspondente aos dias dos grupos tratados. O isolado do *T. vivax* foi proveniente do surto ocorrido na Paraíba, sendo inoculado 1 ml contendo  $10^7$  tripomastigotas. Foram realizados exames clínicos, hematológicos e anatomopatológicos. Os animais apresentaram hipertermia, hidrotórax, ascite e hidropericárdio. À necropsia, o coração de um ovino do G2 apresentou evidências de insuficiência cardíaca. No exame histológico, observou-se necrose hialina, miocardite com infiltrado inflamatório, além de fibrose, sugestivo de insuficiência cardíaca. Na avaliação das lesões no SNC relacionadas ao *T. vivax* foram utilizados 12 caprinos machos, SRD, também dispostos em três grupos: G1 (animais avaliados na fase aguda da doença), G2 (animais avaliados na fase crônica da doença) e G3 (grupo controle). O isolado do *T. vivax* foi decorrente de um surto em bovinos na Paraíba, sendo inoculado 1 ml contendo  $1,25 \times 10^5$  tripomastigotas. Neste estudo, além dos exames clínicos, hematológicos e anatomopatológicos foram realizados também o exame bioquímico do LCR. Os animais apresentaram tetania, bruxismo, opistótono e hipermetria acentuada. No exame do LCR, houve um aumento significativo das proteínas totais e celularidade, bem como glicorraquia e tubidez do líquido. No exame histológico foi verificada meningoencefalite, caracterizada pela presença de infiltrado inflamatório, além de células morulares (células de Mott).

**Palavras-Chave:** Pequenos Ruminantes, Tripanossomíase, *Trypanosoma vivax*.

## **TRIPANOSSOMIASES BY *TRYPANOSOMA VIVAX* IN LITTLE RUMINANTS: DESCRIPTION OF OUTBREAKS AND E EXPERIMENTAL INFECTION OF THE DISEASE**

PAIVA, Erika de Souza. **Trypanosome's by *Trypanosoma vivax* in little ruminants: description of outbreaks and e experimental infection of the disease.** 2009. 83p. Dissertation (Master degree in Animal Sciences: Animal Production and Sanity) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2009.

**SUMMARY:** This research has considered Trypanosome's outbreaks by *T. vivax* that occurred in four groups of little ruminants in three towns of Alto Sertão da Paraíba in 2008 and recreated the disease experimentally in caprines and ovines, in order to relate the cardiac and central nervous system injuries with the parasite. For the statistics analyses the Test of Tukey (SAS) and the Qui-square (Epi Info 6.0) were done. The natural infection evaluation was done in the first outbreak (outbreak 1) and second (outbreak 2) semester of 2008, when the clinic signs were registered, parasitemia, rectal temperature, PCV and body score. 20% of adult caprine and ovine from each flock were chosen. It was noticed that in the first outbreak, the parasitemia was significantly bigger than in the second outbreak for both species, suggesting an acute and chronic stage of the disease. There was also a significant relation between the parasitemia, the temperature, the PCV and the body score in caprines and ovines. The anemia is a more evident clinical signal of the disease, followed by weight loss. At the PCR checkup, it was noticed that all the animals checked had the parasite in the blood. To evaluate the relation between the cardiac injuries with the *T. vivax*, 14 male ovines were used, SRD, disposed in 3 groups, being G1 the animals evaluated up to the 20th dpi (day pos infection), the G2, animals evaluated up to the 90th dpi and the G3 which is the control group, corresponding to the days of the groups treated. The isolated from *T. vivax* was from the outbreak occurred from Paraíba, being inoculated 1 ml containing  $10^7$  tripomastigotes. Clinical exams were done, hematological and anatomic-pathological. The animals presented hyperthermia, hydrothorax, ascites and hidropericardium. To the necropsy, the heart from an ovine from G2 presented evidences of cardiac failure. In the histological exam, hyaline necrosis was noticed, miocarditis with infiltrated inflammatory, besides fibrosis, suggestive of cardiac failure. In the evaluation of the injuries at the SNC related to *T. vivax* 12 male caprines were used, SRD, also disposed in three groups: G1 (animals evaluated in the acute stage of the disease), G2 (animals evaluated at the chronic stage of the disease) and G3 (control group). The isolated from *T. vivax* was due to an outbreak from ovines in Paraíba, being inoculated 1 ml containing  $1.25 \times 10^5$  tripomastigotes. Within this study, besides the clinical exams, hematological and anatomic-pathological exams, the biochemical exam of the LCR were also done. The animals presented tetany, bruxism, opisthotonos and severe hyperthermia. In the exam of the LCR, there was a significant increase of the proteins in general and cellularity, as well as glicorrhachia and tubidez LCR. In the histological exam, meningoencephalitis was noticed, characterized by the presence of infiltrated inflammatory, besides morules cells (cells of Mott).

**Palavras-Chave:** Little Ruminants, Tripanossomiasis, *Trypanosoma vivax*.

## LISTA DE TABELAS

Página

|                                                                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1- Prevalência da infecção por <i>T. vivax</i> em ovinos em dois surtos ocorridos na região semi-árida da Paraíba no ano de 2008. ....                                                 | 43 |
| Tabela 2- Prevalência da infecção por <i>T. vivax</i> em caprinos em dois surtos ocorridos na região semi-árida da Paraíba no ano de 2008. ....                                               | 44 |
| Tabela 3 – Parasitemia e parâmetros clínicos de ovinos e caprinos infectados naturalmente por <i>T. vivax</i> .....                                                                           | 45 |
| Tabela 4 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos no LCR em caprinos do grupo experimentalmente infectado por <i>T. vivax</i> e do grupo controle durante o período experimental. .... | 58 |

## LISTA DE FIGURAS

Página

|                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1- Caprino e ovino com baixos escores corporais devido ao surto por <i>T. vivax</i> ocorrido no sertão da Paraíba em 2008. ....                                                                                                                                                     | 46 |
| Figura 2- Caprino apresentando sinal clínico de palidez de mucosas devido ao surto por <i>T. vivax</i> ocorrido no sertão da Paraíba em 2008. ....                                                                                                                                         | 46 |
| Figura 3- PCR para detecção de <i>Trypanosoma vivax</i> em ovinos e caprinos infectados naturalmente em dois surtos ocorridos em 4 propriedades no alto sertão da Paraíba. BCT= esfregaço da camada leucocitária. Fragmento de 177 pb do gene Catepsina L específico para o parasita. .... | 49 |
| Figura 4- Parasitemia ( $\times 10^7/\text{ml}$ ) em ovinos infectados experimentalmente com <i>Trypanosoma vivax</i> . ....                                                                                                                                                               | 50 |
| Figura 5- Ovino 6, em decúbito, devido à tripanossomíase por <i>T. vivax</i> . ....                                                                                                                                                                                                        | 52 |
| Figura 6- Hidropericárdio no ovino 8 infectado experimentalmente por <i>T. vivax</i> . ....                                                                                                                                                                                                | 52 |
| Figura 7 - Miocardite mononuclear no coração do ovino número 8, infectado experimentalmente por <i>T. vivax</i> . HE, obj. 20. ....                                                                                                                                                        | 53 |
| Figura 8- Deposição de tecido conjuntivo em meio às fibras cardíacas do ovino número 6, infectado experimentalmente por <i>T. vivax</i> . Tricômio de Massom. Obj.20x. ....                                                                                                                | 53 |
| Figura 9- PCR para detecção de <i>Trypanosoma vivax</i> no coração de ovinos infectados na fase aguda e crônica. Fragmento de 177 pb do gene Catepsina L específico para o parasita e está evidenciado pela seta. M= marcador molecular. ....                                              | 53 |
| Figura 10 – Valores médios da temperatura retal (TR) em °C de caprinos dos grupos G1, G2 e G3, em função do período experimental. ....                                                                                                                                                     | 56 |
| Figura 11 – Parasitemia média ( $\times 10^5$ tripanossomas/ml de sangue) de caprinos experimentalmente infectados por <i>T. vivax</i> em função do período experimental em dias pós-infecção. ....                                                                                        | 57 |

|                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 12- Meningite mononuclear observada no caprino 5 do grupo 2 infectado experimentalmente por <i>T. vivax</i> . .....                                                 | 59 |
| Figura 13- Infiltrado inflamatório perivascular mononuclear da substância branca cerebelar do caprino 6 do grupo 2 infectado experimentalmente por <i>T. vivax</i> . ..... | 60 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

| <b>Abreviatura</b> | <b>Descrição</b>                |
|--------------------|---------------------------------|
| <b>EDTA</b> .....  | Ácido Etilenodiaminotetracético |
| <b>DNA</b> .....   | Ácido desoxirribonucléico       |
| <b>Dpi</b> .....   | Dias pós-infecção               |
| <b>HE</b> .....    | Hematoxilina – Eosina           |
| <b>LCR</b> .....   | Líquido Cefalorraquidiano       |
| <b>Obj.</b> .....  | Objetiva (Microscópio)          |
| <b>Pb</b> .....    | Pares de bases                  |
| <b>PCR</b> .....   | Reação em Cadeia da Polimerase  |
| <b>SNC</b> .....   | Sistema Nervoso Central         |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                      | Página |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....                                                                                                                            | 16     |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....                                                                                                                             | 20     |
| 2.1 GERAL .....                                                                                                                                      | 20     |
| 2.2 ESPECIFICOS .....                                                                                                                                | 21     |
| <b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....                                                                                                                 | 21     |
| 3.1 TRIPANOSSOMÍASE .....                                                                                                                            | 21     |
| 3.2 ETIOLOGIA .....                                                                                                                                  | 21     |
| 3.3 EPIDEMIOLOGIA .....                                                                                                                              | 22     |
| 3.4 MORBIDADE E MORTALIDADE .....                                                                                                                    | 23     |
| 3.5 MEIOS DE TRANSMISSÃO .....                                                                                                                       | 23     |
| 3.5.1 Cíclica .....                                                                                                                                  | 23     |
| 3.5.2 Não Cíclica .....                                                                                                                              | 24     |
| 3.5.3 Transmissão Transplacentária .....                                                                                                             | 25     |
| 3.5.4 Estado de Portador .....                                                                                                                       | 26     |
| 3.5.5 Fatores de Risco .....                                                                                                                         | 26     |
| 3.5.5.1 Relativos ao Hospedeiro .....                                                                                                                | 26     |
| 3.5.5.2 Fatores Ambientais .....                                                                                                                     | 27     |
| 3.5.5.3 Fatores Relativos ao Agente Patogênico .....                                                                                                 | 27     |
| 3.6 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA .....                                                                                                                      | 28     |
| 3.7 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS .....                                                                                                                | 28     |
| 3.8 ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS .....                                                                                                     | 29     |
| 3.9 ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS .....                                                                                                              | 31     |
| 3.10 DIAGNÓSTICO .....                                                                                                                               | 32     |
| 3.11 TRATAMENTO E PROFILAXIA .....                                                                                                                   | 33     |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....                                                                                                                   | 36     |
| 4.1 EXPERIMENTO 1: ESTUDO DOS SURTOS DE <i>T. VIVAX</i> EM OVINOS E CAPRINOS NO SERTÃO DA PARAÍBA.....                                               | 36     |
| 4.2 EXPERIMENTO 2: AVALIAÇÃO CLÍNICA E PATOLÓGICA DAS LESÕES CARDÍACAS EM OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR <i>T. VIVAX</i> .....              | 37     |
| 4.3 EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO DAS LESÕES DO SNC E ALTERAÇÕES DO LÍQUOR RELACIONADOS AO <i>T. VIVAX</i> EM CAPRINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE ..... | 39     |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                                                                                                                | 42     |
| 5.1 EXPERIMENTO 1: ESTUDO DOS SURTOS DE <i>T. VIVAX</i> EM OVINOS E CAPRINOS NO SERTÃO DA PARAÍBA.....                                               | 42     |
| 5.2 EXPERIMENTO 2: AVALIAÇÃO CLÍNICA E PATOLÓGICA DAS LESÕES CARDÍACAS EM OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR <i>T. VIVAX</i> .....              | 50     |

5.3 EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO DAS LESÕES DO SNC E ALTERAÇÕES DO  
LÍQUOR RELACIONADOS AO *T. VIVAX* EM CAPRINOS INFECTADOS

|                            |    |
|----------------------------|----|
| EXPERIMENTALMENTE .....    | 56 |
| <b>6 CONCLUSÕES</b> .....  | 65 |
| <b>7 REFERÊNCIAS</b> ..... | 66 |
| <b>ANEXO S</b> .....       | 80 |

## 1. INTRODUÇÃO

*Trypanosoma vivax* é um hemoparasita patogênico de extrema importância para a pecuária por gerar grandes perdas na produtividade dos animais. Este ocorre principalmente na África, em áreas ocupadas pelo seu vetor biológico, a mosca tsé-tsé (*Glossina* spp.) (Anosa, 1983; Murray e Trail, 1984; Jordan, 1986; Gardiner, 1989). Entretanto, devido a sua habilidade de adaptação à transmissão mecânica por insetos hematófagos, principalmente *Tabanus* spp.(Barbeiros) e *Stomoxys* spp.(Mutucas), a tripanossomíase por *T. vivax* tornou-se importante epidemiologicamente também em áreas da América Central e do Sul (Anosa, 1983; Otte e Abuabara, 1991).

A tripanossomíase por *T. vivax* foi diagnosticado pela primeira vez na América Latina em 1919. O surto ocorreu na Guiana Francesa em uma fazenda leiteira com histórico de queda na produção de leite, anemia e perda de peso associada à elevada parasitemia (Batista et al., 2008).

Outro surto foi descrito na Costa Atlântica da Colômbia em 1931, quando ocorreu uma enfermidade de caráter crônico, caracterizada por anemia, perda de peso e enfraquecimento progressivo em animais que apresentavam a presença do parasita em esfregaços sanguíneos (Zapata, 1931 *in* Batista et al., 2006). Um estudo realizado entre 1981 a 1989 no mesmo local confirmou que, bovinos susceptíveis, quando colocados em uma área de ocorrência do parasita, tornaram-se infectados num período de três meses. Mediante ao acompanhamento desses animais ficou comprovado que a infecção primária do *T. vivax* foi caracterizada por alterações subclínicas manifestadas por depressão temporária do hematócrito e redução na taxa de crescimento (Otte, Abuabara e Wells, 1994).

Um surto de tripanossomíase bovina ocorreu na Bolívia em 1998. Nessa ocasião, o parasita foi identificado em 86,2% de 29 bovinos examinados, mediante a técnica do microhematócrito por centrifugação. Os sinais clínicos observados foram febre, anemia,

aborto, perda do apetite, letargia, diarreia e emaciação. O valor mínimo do hematócrito observado foi de 17% e a média de 26% (Silva et al, 1996).

No Brasil, *T. vivax* foi inicialmente diagnosticado no estado do Pará, por Shaw e Lainson (1972). O parasita foi verificado mediante esfregaço sanguíneo de um búfalo que apresentava perda de peso e febre. Serra Freire (1981) também relatou surto de um rebanho bovino no estado do Amapá. Mais de uma década após a descrição do *T. vivax* nesse estado. Silva et al. (1996) relataram a ocorrência de um surto de tripanossomíase na região de Paconé, no estado do Mato Grosso. Dez de 19 bovinos apresentaram o parasita no sangue periférico que foi observado mediante técnica do microhematócrito por centrifugação, associado a esfregaços sanguíneos da camada leucocitária. A sintomatologia relatada pelos autores consistia de febre, letargia, anemia, perda do apetite, enfraquecimento, oftalmite, disenteria, aborto e substancial perda de peso em curto espaço de tempo. Estudo da patogenicidade do *T. vivax* realizado por Paiva et al (2000), no período de abril de 1997 a julho de 1999, mediante acompanhamentos clínicos, laboratoriais e anatomopatológicos em bovinos de propriedades onde o parasita havia sido detectado, ou seja, no estado do Mato Grosso, permitiu concluir que o *T. vivax* não foi responsável pelos casos clínicos observados, uma vez que os animais considerados doentes, parasitados ou não, apresentavam alterações clínico-patológicas compatíveis às observadas em outras enfermidades.

Em maio de 2002 foi descrito o primeiro surto de tripanossomíase no Nordeste, em bovinos leiteiros no sertão da Paraíba, no município de Catolé do Rocha, onde adoeceram 64 bovinos adultos. De um rebanho de 130 animais, 11 morreram. Os animais afetados apresentaram febre, anemia, perda de peso, hipoglicemia, elevação dos níveis de alaminotransferase (AST) e sinais nervosos caracterizados por incoordenação, tremores musculares, cegueira transitória e/ou permanente e hipermetria, além de lesões histológicas caracterizadas por meningoencefalite e malácia (Batista, 2006). Em 2008, foram relatados também surtos de tripanossomíase por *T. vivax* nos estados do Maranhão (Guerra et al., 2008) e Minas Gerais (Carvalho et al., 2008), onde o movimento de rebanhos bovinos pode estar favorecendo a expansão desse agente etiológico no Brasil (Linhares et al., 2006).

No passado, acreditou-se que a doença não era importante epidemiologicamente para os pequenos ruminantes (Stephen, 1970). Entretanto, estudos recentes tem demonstrado claramente que caprinos e ovinos se infectam naturalmente e podem exercer um papel considerável na disseminação da doença (Gutierrez et al., 2006). Devido à susceptibilidade que os ovinos e caprinos tem à *T. vivax*, eles são freqüentemente utilizados como modelo experimental na avaliação da virulência e patogenicidade das cepas.

Embora *T. vivax* desenvolva todas as etapas do seu ciclo biológico no sangue circulante, o parasita apresenta capacidade de migrar nos tecidos do hospedeiro vertebrado (Gardiner, 1989). Dessa forma, foi sugerida a participação do parasita na patogênese de lesões inflamatórias, degenerativas de órgãos como coração (Masake, 1980; Kimeto et al., 1990), sistema nervoso central (Batista et al., 2007; Batista et al., 2008), testículo e epidídimo (Bezerra et al., 2008).

No animal acometido pela tripanossomíase há o comprometimento cardíaco, semelhante ao observado na cardiopatia chagásica humana, caracterizado por acentuado edema intersticial, miocardite mononuclear multifocal, degeneração e necrose de miofibrilas. A degeneração do tecido de condução do coração foi observada por Masake (1980) em bovinos e caprinos infectados experimentalmente por *T. vivax*.

A importância do *T. vivax* na patogênese da cardiopatia foi confirmada por Kimeto et al. (1990) que através da microscopia eletrônica do coração de bovinos infectados experimentalmente detectou o parasita no miocárdio e correlacionou a severidade das lesões inflamatórias encontradas com a localização extravascular do parasita.

Apesar de a miocardite ser freqüentemente relatada no exame histológico do coração de ruminantes infectados por *T. vivax*, não existe estudos que correlacione tal lesão com sinais clínicos de disfunção cardíaca.

Os sinais clínico-patológicos freqüentemente relatados na maioria dos surtos descritos são febre, anorexia, letargia, anemia, emaciação progressiva, queda brusca da produção leiteira, natimortos e repetição de cio. Recentemente, Batista et al. (2007) descreveram importantes aspectos clínicos patológicos e epidemiológicos da infecção natural por *T. vivax* ainda não relatados em surtos nas Américas. Sinais nervosos e lesões histológicas do sistema

nervoso central (SNC) foram descritos em bovinos infectados naturalmente no sertão da Paraíba, contribuindo para a elucidação de alguns aspectos patológicos da enfermidade no SNC de bovinos. Batista et al. (2008) afirmaram que a forma neurológica central que ocorre na África causada pela tripanossomíase provocada por tripanosomas salivários deve ser também considerada como uma importante manifestação da enfermidade nas Américas.

A presença do *T. vivax* no líquido cefalorraquidiano (LCR) e no parênquima do sistema nervoso central (SNC), associada a alterações e lesões nestes locais, como descrita na tripanossomíase por outros tripanossomos do grupo salivário, ainda não foram relatados.

Uma vez que 90% dos caprinos e 50% dos ovinos estão concentrados no Nordeste brasileiro, principalmente no semi-árido, há necessidade de se estudar nessa região, as características da enfermidade em pequenos ruminantes na sua forma natural ou experimentalmente, bem como os sinais clínicos, epidemiológicos e patológicos da tripanossomíase por *Trypanosoma vivax*.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 – GERAL

- Avaliar a ocorrência de surtos de Tripanossomíase por *T. vivax* em caprinos e ovinos no alto Sertão da Paraíba, Brasil.

### 2.2 - ESPECÍFICOS

- Descrever as características clínicas e epidemiológicas da tripanossomíase por *T. vivax*;
- Relacionar o envolvimento da *Trypanosoma vivax* às lesões cardíacas e neurológicas em ovinos e caprinos infectados experimentalmente;

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 TRIPANOSSOMÍASE

Tripanossomíases são doenças provocadas por protozoários patogênicos do gênero *Trypanosoma*, que podem acometer o homem, animais domésticos e silvestres. Segundo a forma de transmissão ao hospedeiro definitivo, as espécies desse gênero são divididas nos grupos: Salivaria e Stercoraria. A transmissão dos *Trypanosomas* pertencentes ao grupo Stercoraria, ocorre através do vetor Triatomíneo, que deposita as formas infectantes junto com suas fezes no local da picada (Gardiner, 1989). O principal representante desse grupo é o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da tripanossomíase americana ou doença de Chagas, que constitui um importante problema de saúde pública para as Américas do Sul e Central, afetando mais de 16 milhões de pessoas (World Health Organization, 1991).

O grupo Salivaria inclui *Trypanosomas* africanos transmitidos por moscas tsé-tsé, pertencentes ao gênero *Glossina*, através da saliva contendo o parasita. As principais espécies pertencentes a esse grupo são: *T. vivax*, *T. congolense*, *T. brucei* e *T. suis* (Stephen, 1986). *T. brucei rhodesiense* e o *T. brucei gambiense*, causam a doença do sono no homem na África oriental e ocidental, respectivamente (Myler, 1993). Outras espécies como o *T. vivax*, *T. evansi*, *T. congolense* e *T. brucei brucei* causam enfermidades nos animais domésticos. Nem todas as tripanosomas são patogênicas.

#### 3.2 ETIOLOGIA

O agente etiológico da tripanossomíase em estudo é o *Trypanosoma vivax*, um protozoário eucariótico, flagelado, da ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidea*, subgênero *Duttonella*. As formas tripomastigotas encontradas na corrente sanguínea apresentam cinetoplastos grandes, em forma de meia lua, localizado na porção terminal, um único flagelo livre e comprimento que varia de 16 µm a 26 µm (Hoare, 1972). Apresenta forma lancetada com corpo alongado, achatado, extremidades afiladas e membrana ondulante reduzida (Dávila et al, 1997). As formas epimastigotas possuem um flagelo livre e uma membrana ondulante que corre toda extensão do corpo (Thompson et al, 1992).

### 3.3 EPIDEMIOLOGIA

Na África, a tripanossomíase nos animais é conhecida como “nagana” ou “secadeira”, termo coletivo que abrange a infecção por *T. vivax*, *T. congolense* e *T. brucei brucei* (Gardiner, 1989).

A tripanossomíase provocada por *T. vivax* tem larga distribuição na África, principalmente em áreas ocupadas pela mosca tsé-tsé, no entanto, o parasita se encontra em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (Levine, 1973).

A ampla distribuição geográfica do *T. vivax* fora do seu local de origem, o continente africano, é atribuída a sua habilidade de adaptação à transmissão mecânica por insetos hematófagos tais como tabanídeos e *Stomoxys spp* (Anosa, 1983; Cordoves et al., 1982; Otte e Abuabara, 1991).

A tripanossomíase provocada por *T. vivax* afeta, principalmente ungulados, incluindo bovinos, ovinos, caprinos, eqüinos, camelos, várias espécies de antílopes selvagens e búfalo africano. Porcos, cães, gatos e animais de laboratório são resistentes ao parasita. No entanto, é possível adaptar artificialmente cepas de *T. vivax* em roedores de laboratório (Gardiner, 1989). Dos hospedeiros vertebrados susceptíveis, a tripanossomíase por *T. vivax* tem importância relevante em ruminantes domésticos. A introdução do parasita em bovinos, ovinos e caprinos é seguida de manifestações de sinais clínicos e aparecimento de lesões da doença. Em infecções experimentais, *T. vivax* tem maior patogenicidade em cabras e ovelhas

que em bovinos (Anosa, 1983). A doença nessas espécies não é um grande problema em condições naturais, pois raramente a mosca tsé-tsé se alimenta em pequenos ruminantes (Jordan, 1986).

Algumas raças de ruminantes domésticos são relativamente resistentes a tripanossomíase por apresentar resistência natural à infecção e permanecerem na condição de portadores assintomáticos, fenômeno denominado de tripanotolerância (Mattioli e Wilson, 1996). Está bem documentado que a raça de bovinos N'Dama (*Bos taurus*) apresenta a habilidade de controlar o nível de parasitemia e anemia, sendo capaz de sobreviver e produzir em áreas infestadas por tsé-tsé, sem a necessidade de utilização de medicamentos (Kemp e Teale, 1998; Murray e Trail et al., 1994; Black et al, 2001). O mesmo não ocorre em bovinos das raças zebuínas (*Bos indicus*), que quando parasitados apresentam severa perda da produção, característica dos hospedeiros susceptíveis (Mattioli e Wilson, 1996).

### 3.4 MORBIDADE E MORTALIDADE

O coeficiente de morbidade varia durante os surtos, podendo chegar a 70% em bovinos infectados pelo *T. vivax*. A mortalidade depende igualmente da espécie parasita, hospedeiro e o seu grau de resistência. Algumas linhagens de *T. vivax* do Leste Africano causam grande mortalidade em vacas leiteiras importadas, caso não sejam tratados. No entanto, grande parte das infecções em bovinos de áreas endêmicas segue curso crônico e nem sempre fatal (Radostits, 2000).

### 3.5 MEIOS DE TRANSMISSÃO

#### 3.5.1 Cíclica

Os tripanosomas africanos podem ser transmitidos por 23 espécies de *Glossina* encontradas somente abaixo da região do Saara, entre as latitudes 14°N e 29°S, excluindo as regiões de altitudes elevadas e temperatura baixa onde a mosca não consegue sobreviver. A transmissão cíclica através do vetor salivário, a mosca tsé-tsé, constitui o principal mecanismo de transmissão do *T. vivax*.

O ciclo biológico do *T. vivax* envolve o hospedeiro mamífero e a mosca tsé-tsé pertencente ao gênero *Glossina*. Após a ingestão do *T. vivax* em sua forma metacíclica pela mosca tsé-tsé durante a hematofagia, tem início o ciclo de desenvolvimento característico do parasita na proboscídea do inseto. O tripanossomo se adere à parede interna da proboscídea pela região flagelar e se diferencia em epimastigota, perdendo a capa de glicoproteínas superficiais. Após intensa multiplicação da forma epimastigota, *T. vivax* adquire nova capa de glicoproteína superficial, diferenciando-se em tripomastigota metacíclico. Desta forma, no fim dessa evolução, os parasitas ao retornarem a forma tripomastigota tornam-se altamente infectantes e passam a ser inoculados nos animais por tsé-tsé durante a hemofagia. Nos hospedeiros mamíferos, as formas tripomastigotas metacíclicas trocam novamente a capa de superfície, diferenciando-se em tripomastigotas sanguíneos. Estas formas se multiplicam na corrente sanguínea por divisão binária, não havendo estágios de evolução intracelular (Gardiner, 1989).

### 3.5.2 Não cíclica

A transmissão mecânica de formas sanguíneas dos tripanossomas pode ainda ocorrer do modo iatrogênico através da utilização de uma agulha por vários animais durante a aplicação de medicamentos ou vacinações (Vargas e Arellano, 1997; Jones e Dávila, 2001).

Moscas picadoras, como as *Tabanidae*, *Stomoxidinae* e *Hippoboscidae* são capazes de transmitir mecanicamente os tripanossomas por meio de suas peças bucais ao se alimentarem em mais de um hospedeiro em curto intervalo de tempo. É dessa maneira que o *T. vivax* dissemina-se em áreas externas ao cinturão onde vive a mosca tsé-tsé, ou seja, na África.

Em Cuba, Cordoves et al. (1982), divulgaram uma lista de nove espécies pertencentes às famílias *Culicidae*, *Ceratopogonidae*, *Simuliidae* e *Muscidae* incriminados na transmissão mecânica de *T. vivax* durante 1970 a 1979. Otte, Abuabara e Wells, (1994), observaram uma correlação positiva entre a incidência de animais contaminados com *T. vivax* e a presença de tabanídeos na Colômbia. Otte e Abuabara (1991) confirmaram a transmissão mecânica ao verificar que os tabanídeos são capazes de transmitir *T. vivax* de um animal altamente parasitado quando o repasto sanguíneo é interrompido, seguido da alimentação em um período inferior a 10 minutos em outro animal saudável.

Visando esclarecer outras possíveis formas de transmissão de *T. vivax*, Lopez et al (1979) obtiveram a infecção do carrapato *Boophilus microplus* após alimentação em bovinos infectados experimentalmente com *T. vivax*. Estes mesmos autores encontraram os parasitas no ovário, peças bucais e glândulas salivares, mas não os encontraram na hemolinfa. Cordoves et al. (1982) atribuíram escassa possibilidade de transmissão mecânica do *T. vivax* pelo *Boophilus microplus*, uma vez que este ácaro, por ser de um único hospedeiro, não apresenta condições biológicas favoráveis para a transmissão.

### 3.5.3 Transmissão Transplacentária

Embora ainda pouco investigada, é de suma importância epidemiológica a transmissão transplacentária do *T. vivax*. Esse tipo de transmissão foi comprovado pela primeira vez por Ikede e Losos (1972) mediante a constatação de grande número de tripanossomas no sangue 4 horas após o nascimento de cordeiros filhos de ovelhas inoculadas experimentalmente com *T. vivax* no terço final da gestação. Posteriormente, Okech et al. (1996); Betancourt (1978) e

MeléndeZ et al (1993) confirmaram esse modo de transmissão, o qual segundo Ogwu et al. (1986) pode estar associado com a ocorrência de abortos e natimortos.

#### 3.5.4 Estado de Portador

Diversos animais selvagens atuam como reservatório da infecção, assim como os animais domésticos com infecção crônica. A abundância relativa de animais silvestres na África Oriental, comparada com a Ocidental, explica pelo menos, em parte, a razão do aparente declínio mais rápido da prevalência da doença na região Ocidental (Radostits et al., 2000).

#### 3.5.5 Fatores de risco

##### 3.5.5.1 Relativos ao hospedeiro

O impacto da infecção varia em função do hospedeiro, conseguindo a maioria dos animais silvestres e algumas espécies domésticas estabelecerem um equilíbrio com o parasita, permanecendo como portadores clinicamente normais durante longo período (Radostits et al., 2000). As raças de ruminantes domésticos são relativamente resistentes à tripanossomíase por apresentar resistência natural à infecção e permanecerem na condição de portadores

assintomáticos, fenômeno denominado de tripanotolerância (Mattioli e Wilson, 1996). Está bem documentado que na raça de bovinos N' Dama e Baoule (*Bos taurus*) e na Orma Boran (*Bos indicus*) ocorrem à habilidade de controlar o nível de parasitemia e anemia, sendo capaz de sobreviver e produzir em áreas infestadas por tsé-tsé, sem a necessidade de utilização de terapêutica medicamentosa (Black et al., 2001; Kemp e Teale, 1998; Murray e Trail, 1984).

#### 3.5.5.2 Fatores ambientais

A densidade populacional da mosca tsé-tsé na região e a probabilidade de contato com o hospedeiro é que determinam a taxa de infecção, a qual ainda é influenciada pela capacidade de transmissão da mosca e a disponibilidade do seu hospedeiro preferencial, que pode não ser animal doméstico (Radostits et al., 2000).

O desenvolvimento agrícola e industrial geralmente determina a redução da densidade dessas moscas em virtude da destruição do seu habitat e o estabelecimento das reservas de caça ou florestais ou proporciona, respectivamente, a concentração de numerosos hospedeiros preferenciais e habitat apropriado à mosca. Por isso, os rebanhos que vivem nas proximidades dessas reservas são expostos a um maior risco de infecção (Radostits, 2000).

#### 3.5.5.3 Fatores relativos ao agente patogênico

Em bovinos, o *T. vivax* determina parasitemia mais alta do que em outras espécies (Radostits et al., 2000).

### 3.6 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Dez milhões de quilômetros quadrados na África encontram-se infestados pela mosca tsé-tsé, englobando 37 países. Assim a “nagana” é hoje a doença mais importante dos animais domésticos neste continente. O risco adicional de infecções humanas tem afetado enormemente o desenvolvimento social, econômico e agrícola das comunidades rurais. Como doença que produz edemaciação, leva os animais à condição de improdutividade permanente em termos de leite, carne, esterco e trabalho, podendo, ainda, ser alta a mortalidade. As perdas devido a essa doença, somente em bovinos, são estimadas em mais de 500 milhões de dólares anuais (Radostitis et al., 2000).

### 3.7 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

A patogenia da tripanossomíase por *T. vivax* é fortemente influenciada por fatores inerentes ao hospedeiro, como susceptibilidade do animal, e também por fatores inerentes ao parasita, como virulência da cepa (ANOSA, 1983). O resultado dessa interação influencia o curso da infecção, que pode se manifestar nas formas aguda, subaguda e crônica, bem como apresentar sinais clínicos variados.

A primeira manifestação clínica da tripanossomíase africana denominada “cancro de inoculação” ocorre no ponto da pele em que tripanossomos metacíclicos são inoculados por *Glossina*, durante a hematofagia. Esta lesão primária é de natureza inflamatória e transitória, caracterizando-se macroscopicamente pelo desenvolvimento de uma área circunscrita tumefeita e, em cortes histológicos, por grande número de tripanossomos e infiltrado inflamatório de células poliformonucleares e mononucleares (Gardiner, 1989).

Do cancro de inoculação, os tripanossomos passam rapidamente para os nódulos linfáticos que drenam o local da picada e daí para o sangue (Gardiner, 1989). A rápida multiplicação por divisão binária da forma tripomastigota promove um gradual aumento de tripanossomos no sangue (Jones et al., 2000). Quando a parasitemia alcança seus valores mais

altos, seguem-se as manifestações clínicas da fase aguda, caracterizadas por anorexia, letargia, febre intermitente, adenopatia generalizada, anemia, imunossupressão e em algumas ocasiões, morte em menos de uma semana (Stephen, 1986).

Em infecções com cepas de alta virulência, a fase aguda pode ser acompanhada de síndrome hemorrágica, coagulação intravascular disseminada e conseqüentes alterações isquêmicas, degenerativas e necróticas (Mwongela et al, 1981; Anosa, 1983; Wellder et al., 1983; Olubayo e Muger, 1987; Gardiner et al., 1989).

Anemia, atraso no crescimento, perda de peso, aborto, redução da fertilidade e queda na produção de leite são os achados mais freqüentes em animais que sobrevivem a fase aguda e desenvolvem a fase crônica da infecção por *T. vivax* (Maikaje et al., 1991; Vargas e Arellano, 1997).

Em algumas ocasiões os parasitas rompem a barreira hematoencefálica e invadem o sistema nervoso central, provoca uma leptomeningite que se estende aos espaços perivasculares de Virchow-Robin e, finalmente, ocorre uma encefalite difusa e sintomatologia nervosa (Thompson et al., 1992).

### 3.8 ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

Embora tendo evidenciado a capacidade de migrar nos tecidos no hospedeiro vertebrado, *T. vivax* desenvolve todas as etapas de seu ciclo biológico no sangue circulante, local onde encontra todos os elementos necessários a sua função vital. No curso da enfermidade, este parasita pode provocar diferentes graus de alterações no quadro hematológico, as quais são caracterizadas, principalmente, pela diminuição da contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito (ANOSA, 1983).

A anemia é o parâmetro hematológico mais comumente associado à tripanossomíase por *T. vivax* (Facer et al., 1982; Anosa, 1983; Olubayo e Muger, 1985). Ao avaliar os parâmetros clínicos em bovinos infectados experimentalmente por *T. vivax* e *T. congolense*, Maxie, Losos e Tabel (1979) constataram, após uma semana de infecção, o desenvolvimento

de anemia macrocítica hipocrômica, associado à trombocitopenia e leucopenia. A elevação da temperatura do corpo foi positivamente correlacionada com o aumento da parasitemia nos animais infectados por *T. vivax*. Gardiner (1989) verificou queda do hematócrito para 9%, cinco semanas após a infecção em bovinos que desenvolveram síndrome hemorrágica quando infectados com uma cepa queniana de *T. vivax*.

A leucopenia devida à linfopenia e neutropenia esteve presente em gado zebu infectado experimentalmente por *T. vivax* (Esuevi e Saror, 1983). Ugochukwu (1986) verificou que a infecção por *T. vivax* cursa com a diminuição dos valores plasmáticos de leucócitos em bovinos, devido a uma significativa redução do número de eosinófilos, monócitos e basófilos.

Desordens hemostáticas caracterizadas por síndrome hemorrágica aguda constituem uma importante alteração observada em animais parasitados por *T. vivax*. Olubayo e Mugera (1985) sugerem que a severa trombocitopenia devida ao consumo de plaquetas para a formação de microtrombos induzidos pelo parasita seja o principal fator responsável pela síndrome hemorrágica. Emeribe et al. (1990) observaram que o principal mecanismo indutor de diátese hemorrágica em ovelhas foi a diminuição da agregação plaquetária.

Quanto aos valores bioquímicos, a alteração nos níveis plasmáticos de glicose tem sido apontada como um importante achado clínico-laboratorial em animais infectados experimentalmente por *T. vivax*. Van Dam et al. (1997) demonstraram que em cabras infectadas por *T. vivax* houve redução dos níveis séricos de glicose, os quais foram positivamente correlacionados com o aumento dos níveis de ácidos graxos livres no plasma, o que sugere o aumento de substrato energético para suprimir o balanço energético negativo. Segundo Kadima et al (2000), a hipoglicemia é atribuída ao gasto energético da hipertermia e a utilização da glicose pelo tripanossomo.

Com relação às alterações no nível sérico protéico, estudos demonstram modificações importantes induzidas pela tripanossomíase. Vertegen et al. (1991), avaliando o efeito da infecção por *T. vivax* sobre o metabolismo energético e balanço de substâncias nitrogenadas em cabras, verificaram que a necessidade de energia para a manutenção aumentou em 25% após a infecção, associado ao balanço nitrogenado negativo, aumento sérico de uréia, excreção urinária de creatinina e perda de peso dos animais.

### 3.9 ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS

Na tripanossomíase por *T. vivax*, as alterações patológicas não são de interesse para o diagnóstico da enfermidade, já que em muitas ocasiões há ausência de lesões e quando ocorrem são inespecíficas. Pode-se observar palidez na carcaça, atrofia gelatinosa dos depósitos de gordura corporal, aumento de volume do coração, esplenomegalia, hidrotórax, ascite e hidropericárdico, bem como aumento de volume dos gânglios linfáticos (Stephen, 1986). Hemorragias generalizadas das vísceras e superfícies das mucosas são manifestações patológicas importantes em hospedeiros ruminantes que apresentam síndrome hemorrágica durante a fase aguda (Mwongela et al, 1981; Gardiner et al., 1989).

Na tripanossomíase africana pode ocorrer inflamação com infiltração de células mononucleares em praticamente todos os tecidos do corpo (Jones et al, 2000). A distribuição e severidade das lesões provocadas por *T. vivax* são similares às de outras tripanossomíases. Comprometimento cardíaco, semelhante ao observado na cardiopatia chagásica humana, caracterizado por acentuado edema intersticial, miocardite mononuclear multifocal e degeneração e necrose de miofibrilas e do tecido de condução do coração foi observado por Masake (1980) em bovinos e caprinos infectados experimentalmente por *T. vivax*. Kimeto et al. (1990), correlacionaram a severidade das lesões inflamatórias com a localização extravascular do parasita.

Em algumas ocasiões, a presença dos tripanossomos na corrente sanguínea é seguida da invasão do sistema nervoso central e líquido cefalorraquidiano, a qual resulta em lesões caracterizadas por meningoencefalite e malácia, atingindo diversas estruturas que podem ser acompanhadas de sintomatologia nervosa e ocasionalmente óbito. Lesões semelhantes não têm sido descritas na tripanossomíase por *T. vivax* em infecções naturais. No entanto, em infecção experimental, Whitelaw et al. (1988) constataram meningoencefalite em cabras que apresentavam sintomatologia nervosa durante a fase aguda da infecção por *T. vivax*.

De acordo com Isoun (1975), a base histológica da lesão provocada pelo *T. vivax* em bovinos é a presença generalizada de trombos de fibrina e êmbolos formados por tripanossomos, localizados nos vasos do coração, pulmão, baço e cérebro. A presença de

microtrombos nos pulmões, rins, fígado e nódulos linfáticos foram observados por Masake (1980) como importante característica da infecção em 25% das cabras que morreram naturalmente durante a fase aguda da infecção.

### 3.10 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico das tripanossomíases em face de dados epidemiológicos e manifestações clínicas sugestivas devem levar em consideração, além das características de sensibilidade e especificidade da técnica utilizada, sua adequação a diferentes fases da doença.

Os parasitas podem ser demonstrados em esfregaços de sangue espessos e finos, em preparações de sangue anticoagulado concentradas e em aspirações de linfonodos e líquido concentrado. Também há testes sorológicos disponíveis (Thompson et al., 1992).

Na fase aguda, quando os tripanosomas são abundantes a identificação morfológica do parasita é possível através de métodos diretos, por meio de exames de sangue fresco entre lâmina e lamínula (Gardiner, 1989). O sangue é mantido aquecido e examinado imediatamente à procura de tripanosomas com movimento ativo. Esfregaços com gota espessa podem ser corados pelo método de Giemsa. Esfregaços finos corados pelo método de Giemsa são necessários para a confirmação. A centrifugação pode ser necessária. Os esfregaços de tecidos precisam ser corados para identificação pré-tripanosômicos (Jawetz et al., 1991). Quando a parasitemia torna-se baixa e intermitente, a sensibilidade do método direto pode aumentar com a técnica da centrifugação do sangue em tubo capilar (Woo, 1970), que segundo Kalu et al. (1986) pode revelar a presença do *T. vivax* mesmo quando há menos de cinco parasitas por µl de sangue.

Na fase crônica da doença, as técnicas de observação direta demonstram baixa sensibilidade, passando o diagnóstico laboratorial a basear-se em métodos imunológicos. Os testes sorológicos são especialmente indicados em inquéritos epidemiológicos quando há infecção subclínica nos rebanhos (Eisler et al., 1998). As reações de imunofluorescência indireta e ensaio imunoenzimático (ELISA) são os métodos sorológicos mais comumente

utilizados para o diagnóstico de tripanosomíases em seres humanos e animais e apresentam sensibilidade variável que na maioria das vezes, não apresentam especificidade suficiente para diferenciar as diferentes espécies de tripanosomos (Eisler et al., 1998; Desquesnes e Tresse, 1996; Masake et al., 1997), fato que segundo Jones e Dávila (2001) diminui o valor dessas provas na América do sul, devido a resultados falsos-positivos provocados por reações cruzadas do *T. vivax* com *T. evansi* e *T. theileri*.

Métodos moleculares que revelam a presença do *T. vivax*, mesmo quando presentes no organismo em quantidades extremamente reduzidas, como a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), vêm adquirindo especial importância no estabelecimento do diagnóstico definitivo da infecção, por permitir a identificação precoce e específica do parasita (Masake et al., 2002; Reifenberg et al., 1997) além da possibilidade de caracterização genética de cepas e sua correlação com peculiaridades da relação parasita hospedeiro (Masake et al., 2002; Ventura et al., 2001).

Para diagnosticar o envolvimento do sistema nervoso central é recomendada a análise do líquido para identificação do tripanossoma, aumento de células leucocitárias e a concentração de proteínas totais (Stanghelini e Roux, 1994). A presença de tripanossoma no líquido deve ser examinada da mesma forma do sangue (Jawetz et al., 1991).

### 3.11 TRATAMENTO E PROFILAXIA

O progresso no desenvolvimento de drogas efetivas no tratamento da tripanossomíase animal foi lento. Até 1960, os arsenicais foram os principais instrumentos terapêuticos da tripanossomíase. Mas em vista dos efeitos secundários decorrentes da toxicidade e o aparecimento de resistência dos parasitas, estes compostos foram progressivamente substituídos (Gardiner, 1989). Atualmente, as principais drogas tripanocidas em uso são: Cloreto de Isometamidium (Samorin), Aceturato de Dimenazene (Berenil, Ganaseg), Brometo de Piritidium (Protidium), Brometo de Homidium (Etidium), Cloreto de Homidium (Novidium) e Cloreto ou Sulfato de Quinapiramine (Triquin) (Vargas e Arellano, 1997).

Algumas drogas de efeito curativo apresentam ação profilática por manter a concentração do princípio ativo nos tecidos por um longo período e, dessa forma, não permitem recidivas parasitológicas ou novas contaminações do animal (Peregrine, 1994). O período de proteção de três a seis meses promovido pelo Isometamidium faz dessa droga o tripanocida mais comumente utilizado com finalidade profilática (Toro et al., 1983; Jordan, 1986). Além do período prolongado da droga nos tecidos do animal, a eficiência das drogas na profilaxia da tripanossomíase depende da adaptação do parasita aos tripanocidas. Peregrine (1994) em estudos do poder profilático do Isometamidium em cepas de *T. vivax* de diferentes origens observaram que a proteção dos animais que receberam dose profilática de 0,5mg/kg durou dois meses quando os animais foram inoculados com uma cepa nigeriana e um mês quando inoculados com uma cepa queniana.

Quando há meningoencefalite, a permeabilidade seletiva da barreira hematoencefálica protege o tripanossoma da ação das drogas, sendo o tratamento efetivo no sistema hemolinfático. Em casos de comprometimento do SNC, o tratamento requer drogas tóxicas e hospitalização (Lejon e Buscher, 2005).

A profilaxia da tripanossomíase africana consiste em quebrar a continuidade da cadeia de transmissão glossina-animal-tripanosoma. Nesse sentido, Jordan (1986) cita as seguintes medidas de controle da doença: uso de raças tripanotolerantes; uso de drogas tripanocidas com fins curativos e profiláticos; desmatamento da vegetação e remoção dos criadouros e habitats dos vetores; aplicação de inseticidas residuais e controle biológico do vetor. Segundo o citado autor, tratamento dos animais acometidos associado ao controle dos vetores através do uso de inseticidas são as medidas mais eficazes para o controle da doença.

Nas áreas onde há ausência da transmissão cíclica do *T. vivax* pela mosca tsé-tsé e a transmissão ocorre mecanicamente, os métodos de controle e tratamento são relativamente simples. O tratamento precoce, visto que a parasitemia é sempre mais alta nos períodos iniciais da doença, provoca rápida cessão da transmissão mecânica por insetos, se este for o principal modo de transmissão (Stephen, 1986). Como forma de prevenir resistência a drogas tripanocidas, Vargas e Arellano (1997) sugerem que no Continente Americano, a

administração de drogas tripanocidas deve ser restrita somente aos animais parasitados, devendo-se evitar a aplicação massiva da droga no rebanho.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. EXPERIMENTO 1: ESTUDO DOS SURTOS DE *T. VIVAX* EM OVINOS E CAPRINOS NO SERTÃO DA PARAÍBA.

O estudo da tripanossomíase por *T. vivax* em caprinos e ovinos foi realizado em quatro rebanhos localizados no alto sertão do estado da Paraíba, nos municípios de Belém do Brejo do Cruz (propriedades 1 e 2), Catolé do Rocha (propriedade 3) e Brejo dos Santos (propriedade 4). Todas as propriedades possuíam histórico de infecção natural por *T. vivax* em bovinos.

O clima da área do estudo segundo a classificação climática de Koppen, é do tipo Bsh semi-árido, quente, com precipitação pluviométrica média anual de 500 mm, temperatura média anual de 27°C e umidade relativa do ar média anual de 50%, com duas estações definidas no ano: uma chuvosa de 3 a 5 meses denominada regionalmente denominada de inverno, que ocorre no primeiro semestre e um longa estação seca, chamada de verão, que tem duração de 7 a 9 meses.

Os dados epidemiológicos, clínicos e as amostras de sangue foram colhidos no ano de 2008, em duas amostragens por propriedade, a primeira no período chuvoso (maio) e a segunda, no período seco (outubro). Nessa ocasião, foi escolhido ao acaso, independente do sexo ou escore corporal o correspondente a 20% do rebanho de caprinos e ovinos adultos.

Os animais selecionados foram inspecionados individualmente, sendo avaliados temperatura retal, aspecto das mucosas aparentes e linfonodos externos. Amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular e destinadas à avaliação do hematócrito, pesquisa do parasita mediante esfregaços sanguíneos finos da camada leucocitária e contagem de tripanosomas no sangue periférico mediante a técnica descrita por Brener (1961).

Em cada propriedade, três amostras de sangue com parasitemia foram destinadas ao diagnóstico definitivo do *T. vivax* mediante a reação em cadeia da polimerase (PCR), conforme metodologia descrita por Ventura et al. (2001).

A condição corporal foi determinada pela atribuição de escore, utilizando-se a escala de 0 a 5 pontos (0= animal extremamente magro e 5= animal gordo), segundo a metodologia descrita por Osório e Osório (2003).

#### 4.2. EXPERIMENTO 2: AVALIAÇÃO CLÍNICA E PATOLÓGICA DAS LESÕES CARDÍACAS EM OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR *T. VIVAX*.

Foram utilizados 14 ovinos machos, sem raça definida, com idade aproximada de um ano. Os animais foram mantidos em baias do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Antes de serem inoculados, os animais foram observados por duas semanas, pesados, vermifugados com anti-helmíntico ivermectina, submetidos a exames clínicos, hematológicos e medicados com a droga tripanocida Aceturato de Diminazene (5mg/kg).

Os animais foram sorteados aleatoriamente para a composição dos grupos experimentais assim caracterizados: o grupo 1 (G1), formado por quatro ovinos infectados por *T. vivax*, avaliados até o 20º dpi-dias pós infecção (nº 1, 2, 3 e 4); grupo 2 (G2) composto por quatro ovinos infectados e avaliados até o 90º dpi (nº 5, 6, 7 e 8); e o grupo 3 (G3) constituído por seis ovinos que não foram infectados por *T. vivax*, sendo três animais avaliados no período correspondente ao grupo-controle G1 (nº 9, 10, 11) e três no mesmo período do grupo-controle G2 (nº 12, 13 e 14).

A cepa de *T. vivax* empregada na infecção experimental dos ovinos era proveniente do sangue de um ovino naturalmente infectado, durante surto ocorrido no município de Catolé do Rocha, Paraíba. O sangue foi coletado em tubos contendo 1mg/ml de ácido

etilenodiaminotetracético dissódico (EDTA), misturado com glicerol a 8% e congelado em nitrogênio líquido (-196°C). Imediatamente antes da inoculação, foi realizado o descongelamento do isolado criopreservado, segundo metodologia descrita por Silva et al.(2002). Cada animal dos grupos G1 e G2 foi inoculado, por via intravenosa, 1 mL de sangue contendo, aproximadamente,  $10^7$  tripomastigotas de *T.vivax*. Nos animais do grupo controle (G3) foi inoculado 1 mL de solução salina a 0,85%.

Os animais de todos os grupos foram examinados diariamente, sendo avaliados temperatura retal, frequências cardíaca e respiratória, aspecto da mucosa aparente e linfonodos externos, assim como sinais clínicos sugestivos de insuficiência cardíaca. Concomitante aos exames clínicos foi realizado a contagem de parasitas do sangue periférico, utilizando-se 5µl de sangue coletado de pequenas veias localizada no pavilhão auricular, disperso entre lâmina e lamínula, segundo metodologia descrita por Brener (1961).

Amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular e destinadas à avaliação do eritograma, um dia antes da infecção e posteriormente em intervalos semanais, de acordo com Ferreira Neto et al. (1981).

O exame anatomopatológico foi realizado em um ovino morto espontaneamente no 58º dpi (ovino n. 6) e nos demais animais dos grupos G1, G2 e G3 no término do período experimental. Durante a necropsia, fragmentos dos órgãos das cavidades torácica, abdominal, do encéfalo e músculos semimembranoso e semitendinoso foram coletados e fixados em solução de formol a 10%, incluídos em parafina, cortados a uma espessura de cinco micrômetros e corados pela Hematoxilina e Eosina.

Após a avaliação macroscópica, o coração de todos os animais foi cortado em fatias para observação de alterações no miocárdio. Em seguida, um fragmento de aproximadamente 1,0cm x 1,0cm x 0,2cm da parede atrial direita foram coletados, processados rotineiramente e corados pelo Tricômico de Masson para observação de tecido conjuntivo fibroso (Luna, 1968). O grau de intensidade da miocardite e da fibrose foram classificadas em leve, moderada e severa, seguindo os critérios descritos por Higuchi et al., 1990 e Palomino et al., 2000.

Amostras de aproximadamente 1cm<sup>3</sup> da parede atrial direita foram coletadas de todos os animais e acondicionadas em eppendorf, contendo álcool a 70% para a pesquisa do *T. vivax* nos tecidos através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), segundo metodologia descrita por Bezerra et al. (2008).

#### 4.3. EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO DAS LESÕES DO SNC E ALTERAÇÕES DO LÍQUOR RELACIONADOS AO *T. VIVAX* EM CAPRINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE.

Foram utilizados 12 caprinos machos, sem raça definida, com idade aproximada de um ano. Os animais foram mantidos em baias do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Antes de serem inoculados, os animais foram observados por duas semanas, pesados, vermifugados com anti-helmíntico, submetidos a exames clínicos e hematológicos e medicados com a droga tripanocida Aceturato de Diminazene (5mg/kg). Os animais foram sorteados aleatoriamente para a composição dos grupos experimentais e distribuídos em três grupos experimentais, assim caracterizados: grupo 1 (G1), formado por quatro caprinos infectados por *Trypanosoma vivax*, avaliados durante a fase aguda da enfermidade (n<sup>os</sup> 1, 2, 3 e 4); grupo 2 (G2) composto por quatro caprinos infectados e avaliados na fase crônica (n<sup>os</sup> 5, 6, 7 e 8); e, grupo 3 (G3) constituído por quatro caprinos não infectados por *T. vivax* (n<sup>os</sup> 9, 10, 11 e 12).

A cepa de *T. vivax* empregada na infecção experimental dos caprinos era proveniente do sangue de um bovino parasitêmico do surto de infecção natural ocorrido no município de Catolé do Rocha, Paraíba (Batista et al., 2008). O sangue foi coletado em tubos contendo 1mg/ml de ácido etilenodiaminotetracético dissódico (EDTA), misturado com glicerol a 8% e congelado em nitrogênio líquido (-196°C). Imediatamente antes da inoculação, foi realizado o

descongelamento do isolado criopreservado segundo metodologia descrita por (Silva et al., 2002). Em cada animal dos grupos G1 e G2 foi inoculado, via intravenosa, 1mL de sangue contendo aproximadamente  $1,25 \times 10^5$  tripomastigotas de *T.vivax*, estimados de acordo com o método de Brener (1961). Já nos animais do grupo controle foi inoculado 1 mL de solução salina a 0,85%.

Nos animais de todos os grupos foram realizados diariamente exames clínicos para avaliar a temperatura retal, aspecto das mucosas aparentes e volume dos linfonodos externos à palpação, assim como o comportamento e o estado geral. Nos grupos G1 e G2, a parasitemia foi avaliada concomitante a cada exame clínico, utilizando-se uma gota de sangue espessa em uma lâmina coberta por lamínula, segundo técnica descrita por Brener (1961).

Hemogramas foram realizados segundo técnica descrita por Ferreira Neto et al. (1981) em todos os caprinos, um dia antes e a cada cinco dias após a infecção. Para a análise dos hemogramas foram coletados 2 ml de sangue através da punção da veia jugular. As amostras foram acondicionadas em tubos esterilizados contendo 1mg/mL de EDTA.

A coleta do líquido cefalorraquidiano (LCR) nos caprinos do G1 foi realizada no 15º dia pós-infecção (dpi). Nos caprinos do G2, a coleta ocorreu cinco dias, após o início do aparecimento de sinais nervosos. Para a comparação dos parâmetros, concomitante às coletas dos grupos G1 e G2, realizou-se o mesmo procedimento nos animais do G3.

A coleta do LCR, foi realizada com o auxílio de tranquilização química usando-se cloridrato de xilazina (Xilazin 2%) na dose de 0,1 mg/kg de peso corporal, via intramuscular, seguida da contenção mecânica dos caprinos. O LCR foi obtido por punção da cisterna magna, com agulhas 25x8, e, em seguida, transferido para frascos de vidro. O aspecto foi avaliado comparando-se o tubo contendo a amostra com outro tubo de água destilada, ambos contra uma superfície de cor branca. A densidade foi obtida por refratometria. As contagens globais de células ou celularidade foram realizadas em câmaras de Neubauer imediatamente após a obtenção das amostras, a fim de evitar a degeneração celular. As determinações dos valores de proteínas totais e glicose foram realizadas mediante o uso de conjunto de reagentes comerciais (DOLES, Belo Horizonte/MG). As leituras foram realizadas em aparelho

analisador bioquímico por meio de espectrofotometria (Gama et al., 2005). Foi realizada ainda pesquisa de *T. vivax* no LCR fresco entre lâmina e lamínula por microscopia de luz.

Para realização do exame anatomo-histopatológico, todos os caprinos do G1 e dois do G3 foram eutanasiados no 15º dpi. Os caprinos nº 5, 6 e 7, do G2, morreram espontaneamente entre o 35º e 38º dpi e os outros dois caprinos restantes do G3 junto com o caprino nº 8 do G2, que não apresentou morte espontânea, foram sacrificados no 38º dpi.

Durante a necropsia, após realização do exame macroscópico, fragmentos dos órgãos das cavidades torácicas e abdominais foram coletados e fixados em solução tamponada de formol a 10%. Após a fixação, o SNC foi seccionado transversalmente no telencéfalo (regiões do córtex frontal, parietal, occipital e temporal), cápsula interna e núcleos da base, tálamo, mesencéfalo a altura dos tubérculos quadrigêmeos, cerebelo, pedúnculo cerebelar, ponte, medula oblonga e medulas cervical, torácica e lombar. Os tecidos fixados foram incluídos em parafina, cortados a uma espessura de 5 microns e corados pela Hematoxilina e Eosina.

Amostras de aproximadamente 1cm<sup>3</sup> do córtex frontal, cápsula interna e substância branca do cerebelo foram coletadas e acondicionadas em eppendorfs contendo álcool a 70% para a pesquisa do *T. vivax* nos tecidos através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), segundo metodologia descrita por Bezerra et al. (2008). A PCR foi usada para amplificar uma região de 177 pb (pares de bases) no domínio catalítico do gene da Catepsina L, específica para *T. vivax* e conservada entre diferentes amostras do parasita, através dos primers Tvi2 (forward: 5' GCC ATC GCC AAG TAC CTC GCC GA 3') e DTO156 (reverse: 5' TTAGAATTCCCAGGAGTTCTTGATGATCCAGTA 3').

Nos três experimentos foram utilizados o teste de Tukey do pacote estatístico SAS (1999) para analisar os dados da temperatura retal, parasitemia, escore corporal, parâmetros hematológicos e bioquímicos do LCR, para comparações múltiplas das médias ao nível de 5% de probabilidade, considerando-se como parcelas os grupos infectados e o controle; a subparcela o tempo de infecção.

No experimento 1, foi avaliado também a prevalência da tripanossomíase na região utilizando-se o teste do Qui-quadrado do programa Epi Info versão 6.0.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. EXPERIMENTO 1: AVALIAÇÃO DE SURTOS DE *T. VIVAX* EM OVINOS E CAPRINOS NO SERTÃO DA PARAÍBA.

Surtos de tripanossomíase por *T. vivax* que causam mortes e queda na economia em rebanhos de bovinos tem sido recentemente descritos na região semi-árida do Brasil (Batista et al., 2007). Entretanto, ao passo que a mortalidade e o aborto em cabras e ovelhas têm sido comumente relatados nesta região, nas mesmas propriedades onde ocorreram surtos em bovinos, não há estudos que relatem os aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção natural por *T. vivax* nesta região.

Nesse experimento, *T. vivax* foi diagnosticado em caprinos e ovinos em todas as propriedades estudadas durante os dois surtos. A prevalência da infecção de *T. vivax* em caprinos e ovinos examinados no primeiro surto foram 29,7% e 25,4% respectivamente. Todas as propriedades continham animais infectados com um mínimo de 18,4% e um máximo de 42,8% de caprinos e ovinos respectivamente. No segundo surto, também foi verificado animais infectados em todas as propriedades, só que com uma pequena redução da prevalência da infecção (Tabelas 1 e 2). Entretanto, os sintomas e as características patológicas da doença divergiram significativamente nos dois surtos (Tabela 3). Os animais infectados no surto 1, tiveram altas temperaturas retais e a parasitemia aumentou concomitantemente com essa temperatura. Foram verificadas também altas parasitemias. Ao contrário dos animais do surto 2, onde foi detectado a parasitemia, mas em baixos níveis, além de apresentarem temperaturas normais (Tabela 3).

Ao exame do hematócrito, no primeiro surto, os caprinos e ovinos encontravam-se altamente parasitêmicos e seus valores foram significantes em relação aos animais do segundo surto, onde houve uma queda na parasitemia. Os valores do hematócrito permaneceram normais para os animais do segundo surto, tanto em caprinos quanto em ovinos. Os baixos

níveis de parasitemia explicam o resultado negativo no exame do esfregaço da camada leucocitária nos animais cronicamente infectados, o qual pode ser diagnosticado por PCR. Em relação ao escore corporal, nos animais do surto 1, esse parâmetro é significativamente mais baixo que nos animais do surto 2. Baixos escores corporais são atribuídos à perda de peso conseqüente à alta parasitemia e anemia (Tabela 3).

Tabela 1- Prevalência da infecção por *T. vivax* em ovinos em dois surtos ocorridos na região semi-árida da Paraíba no ano de 2008.

| Municípios             | Propriedades | Surto 1                  |                 |            | Surto 2                  |                 |            |
|------------------------|--------------|--------------------------|-----------------|------------|--------------------------|-----------------|------------|
|                        |              | Nº de animais examinados | Nº de Positivos | Percentual | Nº de animais examinados | Nº de Positivos | Percentual |
| Belém do Brejo do Cruz | 1            | 22                       | 5               | 22,72%     | 24                       | 4               | 16,67%     |
|                        | 2            | 30                       | 7               | 23,33%     | 33                       | 5               | 15,15%     |
| Catolé do Rocha        | 3            | 28                       | 8               | 28,57%     | 31                       | 8               | 25,81%     |
| Brejo dos Santos       | 4            | 38                       | 5               | 13,15%     | 42                       | 3               | 7,14%      |
| Total                  |              | 118                      | 25              |            | 130                      | 20              |            |

Tabela 2- Prevalência da infecção por *T. vivax* em caprinos em dois surtos ocorridos na região semi-árida da Paraíba no ano de 2008.

| Municípios             | Propriedades | Surto 1                  |                 |            | Surto 2                  |                 |            |
|------------------------|--------------|--------------------------|-----------------|------------|--------------------------|-----------------|------------|
|                        |              | Nº de animais examinados | Nº de Positivos | Percentual | Nº de animais examinados | Nº de Positivos | Percentual |
| Belém do Brejo do Cruz | 1            | 14                       | 3               | 21,43%     | 16                       | 3               | 18,75%     |
|                        | 2            | 18                       | 5               | 27,78 %    | 20                       | 4               | 20,00%     |
| Catolé do Rocha        | 3            | 32                       | 7               | 21,87 %    | 35                       | 5               | 14,29%     |
| Brejo dos Santos       | 4            | 20                       | 5               | 25 %       | 22                       | 3               | 13,63%     |
| Total                  |              | 84                       | 20              |            | 93                       | 15              |            |

Tabela 3 – Parasitemia e parâmetros clínicos de ovinos e caprinos infectados naturalmente por *T. vivax*.

|                   | Ovinos              |                   |                   |                   | Caprinos             |                   |                   |                   |
|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                   | Surto 1             |                   | Surto 2           |                   | Surto 1              |                   | Surto 2           |                   |
| Parâmetros        | Animais positivos   | Animais negativos | Animais positivos | Animais negativos | Animais positivos    | Animais negativos | Animais positivos | Animais negativos |
| Parasitemia       | 146,0 <sup>a*</sup> | -----             | 25,0 <sup>b</sup> | -----             | 128,5 <sup>a**</sup> | -----             | 19,0 <sup>b</sup> | -----             |
| Temperatura retal | 39,7 <sup>a</sup>   | 39,0 <sup>a</sup> | 38,3 <sup>a</sup> | 38,5 <sup>a</sup> | 41,8 <sup>A</sup>    | 37,6 <sup>B</sup> | 38,0 <sup>b</sup> | 37,7 <sup>b</sup> |
| Hematócrito       | 17,0 <sup>a</sup>   | 28,0 <sup>b</sup> | 26,0 <sup>b</sup> | 27,0 <sup>b</sup> | 18,0 <sup>A</sup>    | 27,0 <sup>B</sup> | 26,0 <sup>b</sup> | 25,5 <sup>b</sup> |
| Escore corporal   | 2,5 <sup>a</sup>    | 4,0 <sup>b</sup>  | 3,5 <sup>b</sup>  | 3,5 <sup>b</sup>  | 2,0 <sup>A</sup>     | 3,5 <sup>B</sup>  | 3,0 <sup>b</sup>  | 3,0 <sup>b</sup>  |

<sup>a\*</sup> Técnica do esfregaço da camada leucocitária

\*Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade para os parâmetros analisados em ovinos.

\*\*Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade para os parâmetros analisados em caprinos.

Os animais infectados com *T. vivax* manifestaram apatia, mucosas pálidas, hipertrofia de linfonodos, fraqueza e perda progressiva de peso (Figura 1 e 2). Todos estes sintomas foram mais acentuados na fase aguda da doença, onde a parasitemia e a anemia foram mais intensas. Dois animais apresentaram opacidade de córnea, duas cabras e quatro ovelhas abortaram no primeiro semestre, isto é, no primeiro surto. Durante o surto de *T. vivax*, nasceram animais fracos e pequenos que, após três dias, morreram. Não houve diferença significativa entre a prevalência da infecção, em relação aos parâmetros clínicos, entre caprinos e ovinos, exceto por um leve aumento da parasitemia e da anemia observada nos

ovinos, sugerindo que ovinos pode desenvolver a tripanossomíase mais severamente que caprinos. No primeiro surto, a mortalidade em ovinos foi de 10, 1% dos animais examinados (12 mortes) enquanto que somente 8,3% dos caprinos morreram (7 mortes). Animais sintomáticos permaneceram em decúbito e morreram após um curso clínico de aproximadamente uma semana.



Figura 1- Caprino e ovino com baixos escores corporais devido ao surto por *T. vivax* ocorrido no sertão da Paraíba em 2008.



Figura 2- Caprino apresentando sinal clínico de palidez de mucosas devido ao surto por *T. vivax* ocorrido no sertão da Paraíba em 2008.

Alguns animais aparentemente assintomáticos morreram de repente, na mesma região onde ocorreram surtos de tripanossomíase por *T. vivax* em bovinos. Batista et al. (2007) observaram que esses animais apresentavam sinais nervosos. Porém, neste estudo, não foram relatados esses sinais em caprinos e ovinos.

Altas parasitemias acompanhadas por febre, anemia e progressiva perda de peso indicaram que caprinos e ovinos desenvolveram uma forma aguda da infecção por *T. vivax* durante o período chuvoso, ou seja, no primeiro surto.

Apesar de os animais não terem sido tratados com drogas tripanocidas, a maioria recuperou-se da infecção aguda e exibiram boa saúde no segundo surto. A recuperação completa 5 meses após o primeiro surto indicaram que seguinte a fase aguda, a doença evoluiu para uma fase crônica, porém assintomática. Por conseguinte, os dados desses dois surtos permitiram seguir o curso da tripanossomíase por *T. vivax* em caprinos e ovinos, que vai do surto até o estabelecimento da forma crônica da doença. Esta progressão foi caracterizada por uma redução gradual dos sintomas até o completo desaparecimento dos sinais clínicos e detecção de baixas parasitemias. Evolução similar foi previamente observada após o primeiro surto de *T. vivax* em bovinos no município de Catolé do Rocha, onde um rebanho bovino da mesma propriedade que foi realizado esse estudo, apresentaram-se assintomáticos ou com o quadro de auto-cura após dois anos (Batista et al., 2007).

De acordo com os dados apresentados, cinco meses após o primeiro surto, pode ser que os pequenos ruminantes sejam carreadores e conseqüentemente importantes fontes de *T. vivax* para todos os ruminantes na região semi-árida do Brasil. Foram demonstrados que rebanhos bovinos dessa região podem ser altamente susceptíveis à infecção natural por *Trypanosoma vivax* e desenvolvem a doença de forma severa como abortos, sinais nervosos e morte dos animais, que são incapazes de se recuperarem da infecção (Batista et al., 2007). Ovinos infectados experimentalmente com o *T. vivax* proveniente do surto em bovinos no município de Catolé do Rocha desenvolveram degeneração testicular e epididimária (Bezerra et al., 2008). Na América Latina, a transmissão transplacentária do *T. vivax* parece ser epidemiologicamente relevante, sendo que abortos têm sido relatados em ovelhas infectadas experimentalmente (Desquesnes, 2004). Na África, *T. vivax* causa abortos freqüentes e aumentou tanto a mortalidade quanto os intervalos entre partos em caprinos e ovinos (Bawa et al., 2000; Maikaje et al., 1991; Akinwale et al., 2006).

No Brasil e em outras regiões onde a transmissão do *T. vivax* é estritamente mecânico, os vetores transmitem um número pequeno de parasitas. Esta peculiaridade associada à redução de variantes antigênicos pela transmissão mecânica do *T. vivax* permitiu o controle

natural da infecção bem como auxiliou a explicar a estabilidade enzoótica da infecção em regiões endêmicas da América do Sul (Jones e Dávila, 2001; Desquesnes, 2004). Animais cronicamente infectados que se recuperaram da fase aguda por *T. vivax* na ausência de um tratamento específico pode permanecer clinicamente normal por um longo tempo. Essa infecção pode ser reativada por outros patógenos e por estresse nutricional ou físico. Após o tratamento ou “auto-cura”, os animais podem novamente manifestar a doença e um novo surto epizootico pode ocorrer (Otte et al., 1994; Vos et al., 1998; Desquesnes, 2004). Na fase aparasitêmica, pode ser que os tripanosomas estabeleçam num foco extravascular, tais como os nodos linfáticos, o humor aquoso, e fluido cerebrospinal (Whitelaw et al., 1988; Osório e Osório, 2003). Alternativamente à recidiva da infecção, a origem de *T. vivax* que causa o surto epizootico pode ter vindo de animais infectados provenientes de outras regiões recentemente introduzidos nos rebanhos (Desquesnes, 2004; Osório e Osório, 2003).

A tripanossomíase animal ainda é um problema em relação ao diagnóstico, na América do Sul, principalmente devido a não patogenicidade dos sinais clínicos, o grande número de espécies distintas e a insuficiente sensibilidade das técnicas parasitológicas convencionais para detectar a doença na fase crônica. O diagnóstico da tripanossomíase neste experimento foi realizado usando o esfregaço da camada leucocitária, sendo confirmada em três caprinos e três ovinos, no surto 1, através do exame específico, o PCR (Figura 3) (Cortez et al., 2009). Além disso, amostras de sangue negativo de 20 animais para tripanossomíase, pelo exame da camada leucocitária, de cada espécie e surto também foram testados pelo PCR (Dados ainda não publicados). Apesar de as bandas fracas de DNA indicarem baixa parasitemia na maioria dos animais no surto 2, o PCR foi capaz de detectar 11 animais adicionais, sendo oito no surto 1 e três no surto 2. Estes resultados confirmaram a sensibilidade deste método para diagnosticar a enfermidade na sua fase crônica, assim auxiliando na identificação de reservatórios de *T. vivax*.

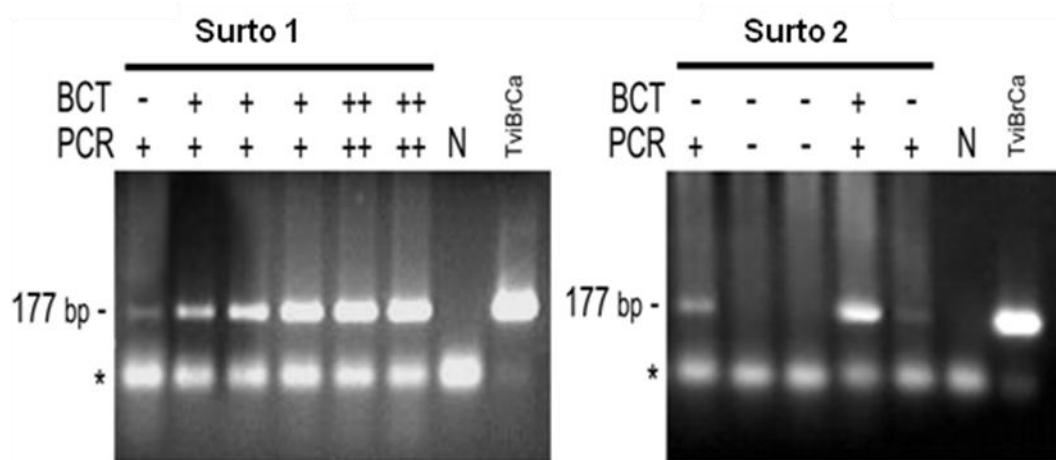


Figura 3- PCR para detecção de *Trypanosoma vivax* em ovinos e caprinos infectados naturalmente em dois surtos ocorridos em 4 propriedades no alto sertão da Paraíba. BCT= esfregaço da camada leucocitária. Fragmento de 177 pb do gene Catepsina L específico para o parasita.

Uma comparação da Catepsina-L com o gene ITS rDNA revelou seqüências idênticas entre o isolado de *T. vivax* nos caprinos e ovinos examinados e o isolado proveniente de um surto em um rebanho de bovinos no município de Catolé do Rocha (TviBrCa). Seqüências do isolado TviBrCa foram depositados em um banco de genes acompanhados pelos seguintes números de acesso: ITS rDNA (DQ316045 e DQ316046) e o gene ligado a Catepsina-L (EU753787 e EU 753788) (Rodrigues et al., 2006; Cortez et al., 2009). As evidências epidemiológicas sugerem que bovinos foram a fonte de transmissão do *T. vivax*, causando o surto em caprinos e ovinos (Batista et al., 2008).

A principal característica hematológica da tripanossomíase é a anemia, a qual é geralmente atribuída aos parasitas gastrintestinais. Porém, em todas as propriedades, os animais foram vermifugados principalmente no período chuvoso quando o surto ocorreu. Os animais eram criados no regime semi-extensivo, alimentados com pastagens nativas, as quais se encontravam em abundância no ano de 2008 devido ao aumento do índice pluviométrico do referido ano. Os pequenos ruminantes e o rebanho bovino pastam juntos próximo a açudes onde um grande número de insetos hematófagos foi observado durante o período chuvoso, além de culicidas, simulicidas e muscidas em geral. O número de tabanídeos foi maior que o normal. Para a transmissão mecânica ser realizada são necessários animais parasitêmicos,

novos hospedeiros e um grande número de insetos vetores, como os tabanídeos (Desquesnes, 2004).

## 5.2. EXPERIMENTO 2: AVALIAÇÃO CLÍNICA E PATOLÓGICA DAS LESÕES CARDÍACAS EM OVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR *T. VIVAX*

O *T. vivax* foi detectado no sangue periférico de todos os ovinos dos grupos G1 e G2, entre o 5º e 9º dia após a infecção. A parasitemia aumentou progressivamente, atingindo o nível máximo em torno do 12º e 20º dpi. Nos animais do grupo G2, observou-se novo pico no 35º dpi. A partir desse período, houve redução drástica da parasitemia, tornando-se de baixa intensidade com redução gradual, de modo que, a partir do 47º dpi não foi detectado parasitemia em nenhum dos animais do referido grupo (Figura 4).

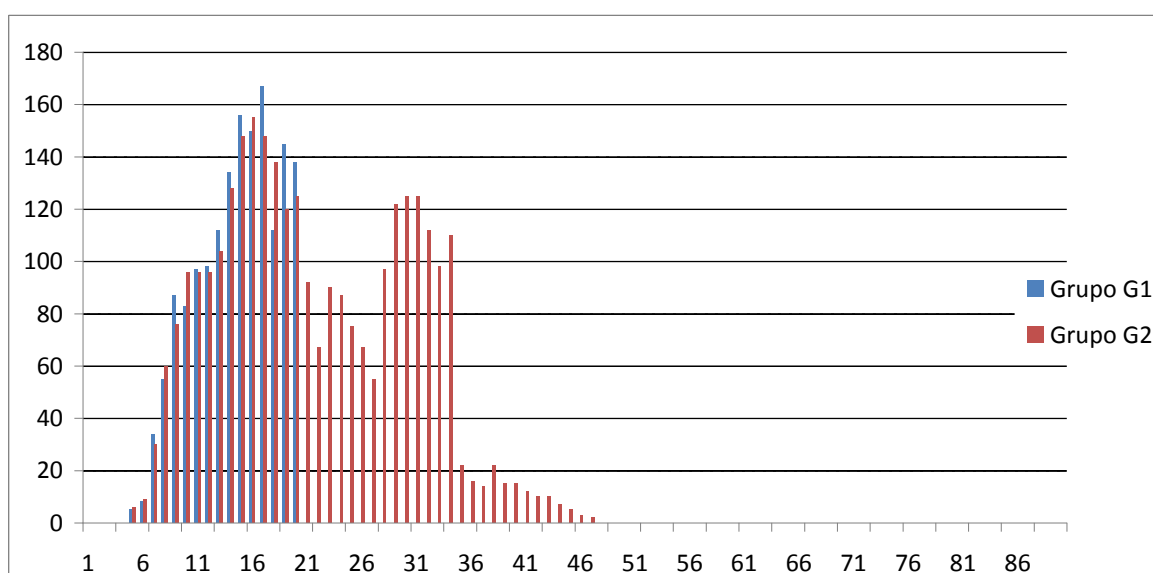


Figura 4- Parasitemia ( $\times 10^7/\text{ml}$ ) em ovinos infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*.

Os ovinos dos grupos G1 e G2 apresentaram hipertermia entre o 7º e o 15º dpi, com valor médio máximo de 41,8°C. Nos ovinos do grupo G2, este parâmetro apresentou-se acima dos valores médios do grupo G3 até o 31º dpi. Após esse período, houve redução gradual da temperatura retal e no 43º dpi, esse parâmetro manteve dentro da normalidade para a espécie e não houve diferença significativa em relação aos animais do grupo G3 ( $P>0,05$ ).

Os sinais clínicos tornaram-se evidentes a partir do 12º dpi que se constituiu de apatia, taquipnéia e taquicardia, anorexia, palidez das mucosas e hipertrofia dos linfonodos. Os ovinos n<sup>os</sup> 6 e 8 apresentaram agravamento substancial do quadro clínico com emagrecimento progressivo, fraqueza muscular, letargia, andar lento, sinais de cansaço e taquipnéia após movimentação, permanência por longos períodos em decúbito (Figura 5). Os sinais clínicos tornaram-se mais evidentes no ovino n. 6 que no 58º dpi foi encontrado morto no recinto.

No 18º dpi, os ovinos do grupo G2 apresentaram redução significativa ( $P<0,05$ ) no número médio de hemácias, do hematócrito e dos valores de hemoglobina. A partir do 32º dpi houve aumento dos valores médios do eritograma de forma que no 53º dpi os valores apresentaram-se dentro da normalidade para a espécie e não diferiram significativamente dos animais do grupo G3 ( $P<0,05$ ).

As alterações macroscópicas observadas nos ovinos infectados foram: palidez da carcaça, aumento do volume dos linfonodos e atrofia gordurosa do pericárdio. Os ovinos n<sup>os</sup> 6 e 8 apresentaram ainda ascite, hidrotórax, hidropericárdio (Figura 6) e congestão visceral, particularmente do fígado e dos rins. Essas alterações foram mais acentuadas no ovino 6. O coração do referido animal apresentou moderado aumento de volume, paredes ventriculares finas e flácidas, áreas focais pálidas no miocárdio e presença de um grande coágulo sanguíneo no ventrículo esquerdo.

No exame histológico, observou-se no baço e linfonodos dos ovinos dos grupos G1 e G2 hiperplasia dos folículos linfóides com grande número de plasmoblastos. Os ovinos 5, 6 e 8 apresentaram congestão e hemorragias centrolobulares, tumefação e vacuolização de hepatócitos periportais. No músculo, foram observados focos de miosite moderada, caracterizados por infiltrado inflamatório de células mononucleares, entre as fibras dos ovinos 6 e 8.

Múltiplos focos de cardiomiócitos com necrose hialina, caracterizada pela presença de fibras tumefeitas, eosinofílicas, com perda de estriações e picnose nuclear foram observados nos ovinos n<sup>os</sup> 1, 3 e 4 (Figura 6). Infiltrado inflamatório composto de linfócitos, plasmócitos e ocasionais macrófagos foram observados largamente distribuídos no epicárdio de todos os ovinos do grupo G2. No miocárdio dos ovinos n<sup>os</sup> 6 e 8 foi observado miocardite evidenciada pela presença de numerosos e extensos focos de células mononucleadas (linfócitos, plasmócitos e macrófagos), confluentes no interstício (Figura 7), além de fibrose, caracterizada por deposição de tecido conjuntivo em meio as fibras cardíacas (Figura 8). Quanto à classificação da intensidade das lesões, o ovino n. 8 apresentou lesões inflamatórias severas e fibrose moderada, enquanto que no ovino n. 6 as lesões inflamatórias foram leves e a fibrose severa.

Todas as amostras da parede atrial direita do coração dos ovinos pertencentes aos grupos G1 e G2 revelaram-se positivas para *T. vivax*, no diagnóstico por PCR. Fragmentos de 177 pb do domínio catalítico do gene Catepsina L, específico para o *T. vivax*, foram visualizados em gel de agarose a 2% em todas as amostras testadas, enquanto as amostras dos ovinos do grupo G3 evidenciaram-se negativas (Figura 9).

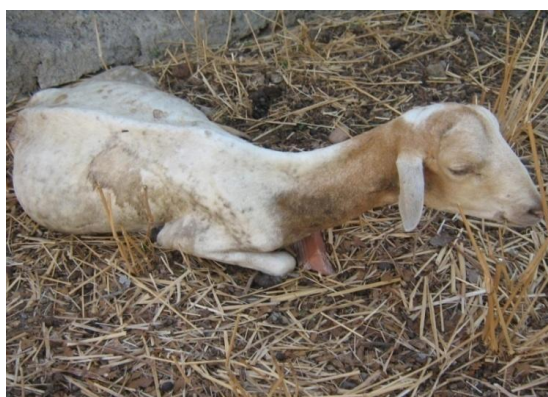


Figura 5- Ovino 6, em decúbito, devido à tripanossomíase por *T. vivax*.

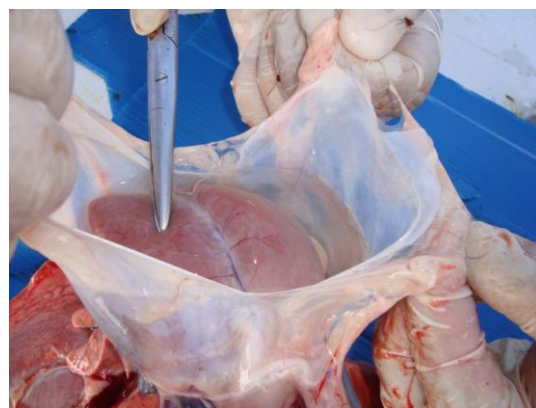


Figura 6- Hidropéricárdio no ovino 8 infectado experimentalmente por *T. vivax*.

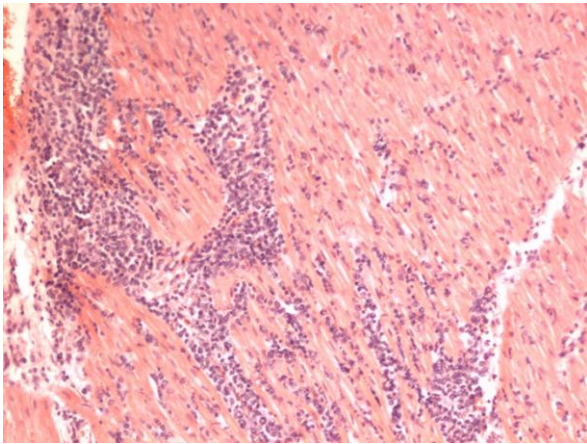


Figura 7 - Miocardite mononuclear no coração do ovino número 8, infectado experimentalmente por *T. vivax*. HE, obj. 20

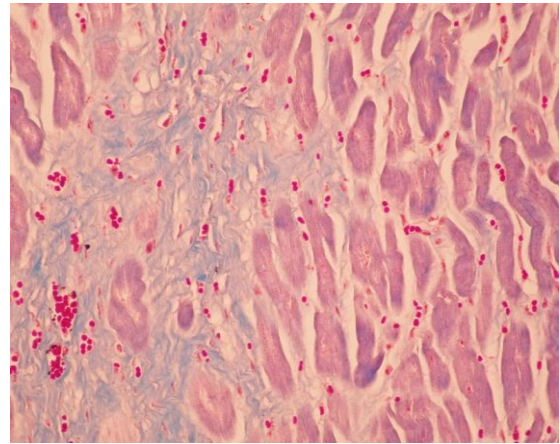


Figura 8- Deposição de tecido conjuntivo em meio às fibras cardíacas do ovino número 6, infectado experimentalmente por *T. vivax*. Tricômio de Masson. Obj.20.

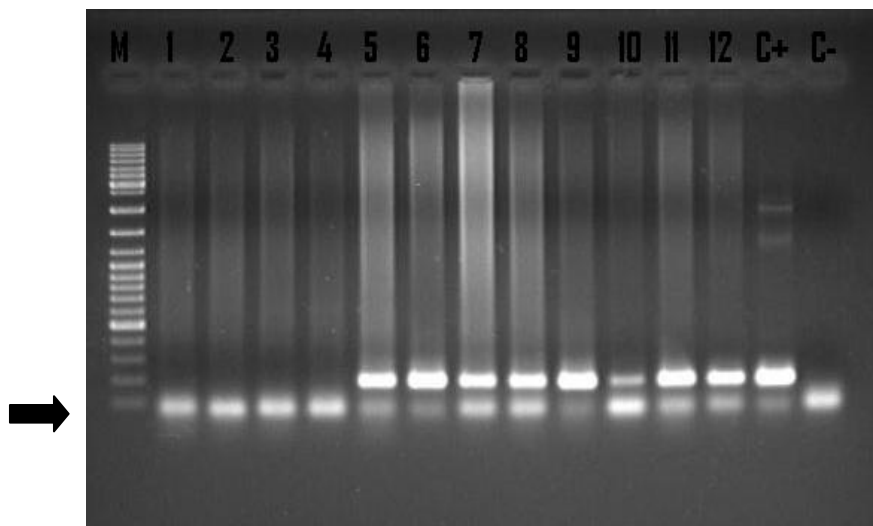


Figura 9- PCR para detecção de *Trypanosoma vivax* no coração de ovinos infectados na fase aguda e crônica. Fragmento de 177 pb do gene Catepsina L específico para o parasita e está evidenciado pela seta. M= marcador molecular.

A tripanossomíase animal caracteriza-se pela presença de diversidade de sinais clínicos, dependendo tanto de fatores inerentes ao parasita quanto ao hospedeiro vertebrado. A anemia é o sinal clínico mais freqüente e característico da doença (Gardiner, 1989), no entanto, algumas cepas podem induzir imunossupressão (Stephen, 1970), síndrome hemorrágica (Emeribe et al., 1990), sintomatologia nervosa (Batista et al., 2007; Batista et al., 2008), perda de peso (Camus e Martrenchar, 1990; Silva et al., 1996), queda na produção leiteira (Vargas e Arellano, 1997), alterações reprodutivas tais como anestro, aborto (Batista et al., 2008), degeneração testicular e redução da qualidade espermática (Bezerra et al., 2008).

Os sinais clínicos apresentados pelos animais do grupo G1, caracterizados por hipertermia, apatia, anorexia, palidez das mucosas e redução do hematócrito são mencionados como principais sinais clínicos iniciais apresentados em ruminantes infectados por *T. vivax* (Batista et al. 2006; Adeiza et al., 2008).

O quadro clínico apresentado por dois animais do grupo G2 caracterizado por letargia, sinais de cansaço e taquipnéia após movimentação, permanência por longos períodos em decúbito e relutância em andar são sugestivos de insuficiência cardíaca. Evidências clínicas do comprometimento cardíaco foram constatadas durante o exame necroscópico que demonstrou alterações anatomopatológicas observadas na insuficiência cardíaca direita tais como ascite, hidrotórax, hidropericárdio e congestão visceral.

O quadro histológico caracterizado por miocardite multifocal mononuclear e fibrose intersticial foram semelhantes aos observados por Batista et al. (2008) em caprinos infectados experimentalmente com *T. vivax* isolado do sangue de bovinos durante um surto de infecção natural no município de Catolé do Rocha, Paraíba. Os citados autores sugerem que o quadro clínico de apatia e incapacidade física pode estar associado com as lesões histológicas citadas.

Indicadores morfológicos de que as lesões são progressivas podem ser evidenciadas no quadro histológico do coração dos animais infectados. Nos animais do grupo G1 as lesões foram de natureza degenerativa e necrótica, enquanto que nos animais do grupo G2 foram de natureza inflamatória com fibrose reparativa. O quadro histológico pode está associado à evolução clínica da enfermidade com manifestação clínica de insuficiência cardíaca na fase crônica. Sobre esse fato, Radostits et al. (2000) afirma que lesões miocárdicas graves podem

culminar na deterioração da capacidade funcional do coração como bomba e no conseqüente aparecimento dos sinais e sintomas de insuficiência cardíaca.

Uma vez que tripanossomos do grupo salivário provocam inflamação em praticamente todos os tecidos do corpo (Jones et al. 2000), as lesões inflamatórias freqüentemente observadas nos órgãos de animais infectados por *T. vivax* são descritas como de caráter inespecíficas e não significantes (Paiva et al. 2000). Dessa forma, a miocardite geralmente fica mascarada, pouco valorizada e não associada com os sinais clínicos patológicos de insuficiência cardíaca. Sinais clínicos de apatia, incapacidade física, prostração e morte verificadas em alguns animais infectados por *T. vivax* geralmente são atribuídos a anemia intensa. Entretanto, no presente estudo a anemia foi um evento transitório e os animais que apresentaram sinais clínicos de insuficiência cardíaca não apresentaram essa alteração hematológica.

A presença do *T. vivax* no tecido cardíaco, identificado mediante a técnica da PCR nos ovinos dos grupos G1 e G2, confirma a migração extravascular do parasita e evidencia sua participação na geração e manutenção das lesões cardíacas. A presença do *T. vivax* no tecido cardíaco dos animais do grupo G1 sugere a migração extravascular precoce do parasita para o coração.

Nesse experimento, destaca-se a ausência de associação da parasitemia com o escore das lesões cardíacas, ou seja, nos animais com altas parasitemias (fase inicial da infecção), as lesões cardíacas foram leves, enquanto que na fase terminal a parasitemia foi ausente e as lesões cardíacas foram severas. A falta de correlação entre a intensidade da parasitemia e a severidade das lesões cardíacas é freqüentemente relatada na tripanossomíase por *T. cruzi* em humanos (Higuchi et al., 1993).

A despeito das diferenças etiológicas e forma de transmissão, a evolução clínica patológica das lesões cardíacas observadas no presente estudo foi semelhante aos observados na tripanossomíase americana humana provocada pelo *T. cruzi*.

### 5.3. EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO DAS LESÕES DO SNC E ALTERAÇÕES DO LÍQUOR RELACIONADOS AO *T. VIVAX* EM CAPRINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE.

Durante a semana que antecedeu a infecção, tempo em que os animais passaram por um período de adaptação, nenhuma anormalidade clínica foi observada. Os caprinos dos grupos G1 e G2 apresentaram hipertermia no 5º dia pós-infecção (dpi), com valor médio máximo de 41,3º C. Nos caprinos do grupo G2, este parâmetro apresentou-se acima dos valores médios do grupo G3 até o 21º dpi. Após esse período, houve redução gradual da temperatura retal que se manteve dentro da normalidade para a espécie até 28º dpi. A partir do 29º dpi houve um novo aumento deste parâmetro e diferença significativa em relação ao grupo G3 ( $P < 0,05$ ) (Figura 10).

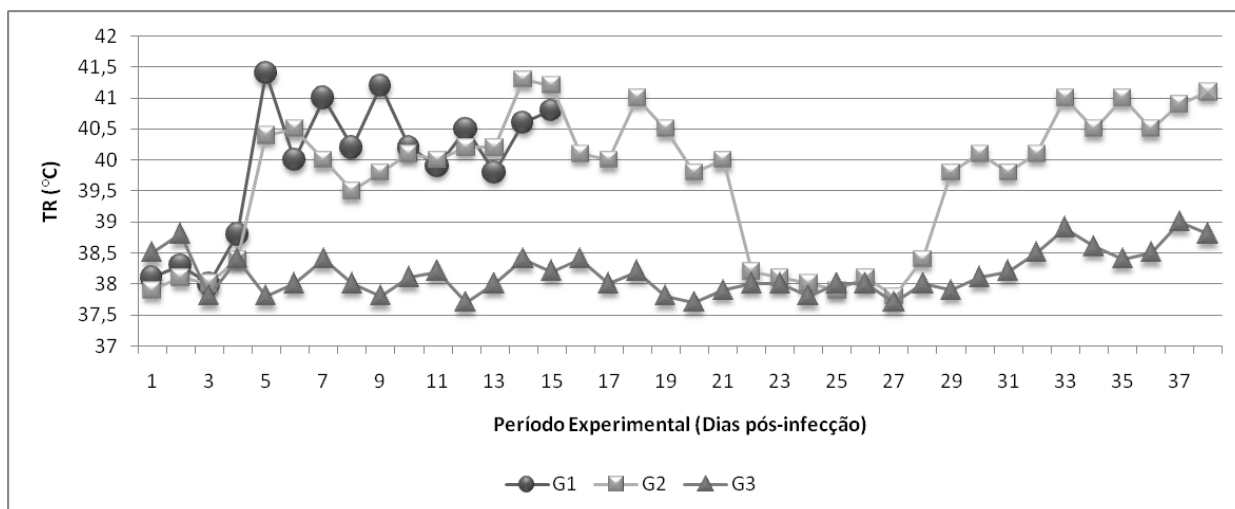


Figura 10 – Valores médios da temperatura retal (TR) em °C de caprinos dos grupos G1, G2 e G3, em função do período experimental.

A presença de *Trypanosoma vivax* no sangue foi observada a partir do 5º dpi nos animais dos grupos G1 e G2. O maior pico parasitêmico ocorreu do 7º ao 21º dpi (máximo de  $112,5 \times 10^5$  triponossomas/ml de sangue) nos animais do grupo G2, seguindo-se a um período de baixa intensidade parasitêmica entre o 22º e 31º dpi. No 32º dpi houve um novo pico parasitêmico ( $78,8 \times 10^5$  triponossomas/ml), seguido de outra redução da parasitemia, a

qual se manteve baixa até o final do período experimental. Os animais do grupo G1 apresentaram, do 1º ao 15º dpi valores da parasitemia similares ao grupo G2 (Figura 11).

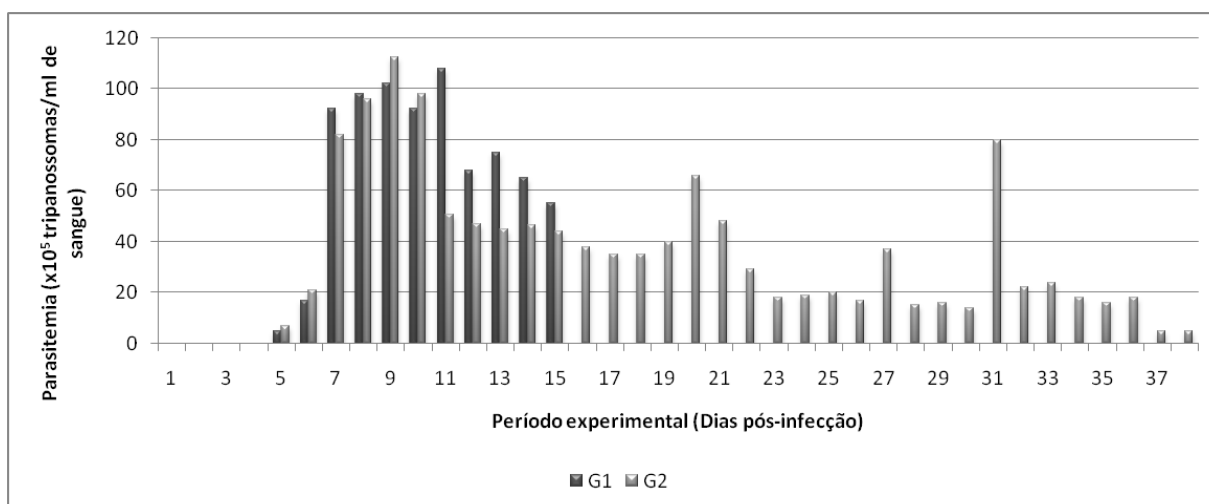


Figura 11 – Parasitemia média ( $\times 10^5$  tripanossomas/ml de sangue) de caprinos experimentalmente infectados por *T. vivax* em função do período experimental em dias pós-infecção.

Os caprinos do grupo G2 apresentaram mucosas ocular, bucal e prepucial acentuadamente pálidas, aumento do volume dos linfonodos, apatia, fraqueza muscular e emagrecimento. Um caprino (nº 6) apresentou secreção ocular purulenta e opacidade de córnea. Os caprinos nº 6 e 8 apresentaram ainda dispnéia e secreção nasal muco purulenta.

Os caprinos nº 5, 6 e 7 apresentaram, respectivamente no 30º, 32º e 35º dpi distúrbios neurológicos caracterizados por incoordenação motora, quedas, opistótono, nistagmo, tetania, bruxismo e movimentos de pedalar. As crises duravam, em média, 5 minutos. Após esse tempo, os animais ficavam aparentemente normais e posteriormente apresentavam recidiva dos sinais neurológicos. Os caprinos nº 6 e 7 apresentaram hipermetria acentuada. No final de um curso clínico médio de aproximadamente 4 dias, houve o agravamento do quadro clínico e os animais permaneceram em decúbito lateral até a morte espontânea, que ocorreu aos 35º dpi (caprino nº 5); 36º dpi (caprino nº 7) 38º dpi (caprino nº 6) enquanto que caprino nº 8 foi sacrificado junto com dois caprinos restantes do G3, já que o mesmo não apresentou morte espontânea ocasionada pela parasitemia.

Os hemogramas dos animais do grupo controle permaneceram dentro da normalidade para a espécie durante todo o período experimental. A partir do 5º dpi os animais dos grupos G1 e G2 apresentaram redução significativa ( $P < 0,05$ ) no número de hemácias e valor do hematócrito. Além da acentuada anemia, os animais do grupo G2 apresentaram leucopenia e linfocitose.

Na avaliação bioquímica do LCR foram observadas no G2 uma elevação significativa ( $P < 0,05$ ) dos valores médios de proteína total e celularidade. No referido grupo observou-se ainda redução significativa do valor médio do teor de glicose ( $P < 0,05$ ). *T. vivax* foi observado microscopicamente em todos os animais do G2. Não se observou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os grupos G1 e G3 para os parâmetros analisados do LCR, bem como *T. vivax* não foi observado (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos no LCR em caprinos do grupo experimentalmente infectado por *T. vivax* e do grupo controle durante o período experimental.

| Parâmetros Analisados |         |                 |                   |                             |                    |                 |
|-----------------------|---------|-----------------|-------------------|-----------------------------|--------------------|-----------------|
| Grupos                | Aspecto | Proteína total  | Glicose (ml/dl)   | Celularidade (cel/ $\mu$ l) | Densidade          | <i>T. vivax</i> |
| G1                    | Límpido | 25 <sup>a</sup> | 74,5 <sup>a</sup> | 8,0 <sup>a</sup>            | 1.006 <sup>a</sup> | Ausente         |
| G2                    | Turvo   | 90 <sup>b</sup> | 12,0 <sup>b</sup> | 25 <sup>b</sup>             | 1.045 <sup>b</sup> | Presente        |
| G3                    | Límpido | 30 <sup>a</sup> | 80,0 <sup>a</sup> | 6,0 <sup>a</sup>            | 1.004 <sup>a</sup> | Ausente         |

a, b: comparativos estatísticos.

No exame histológico, observou-se, no baço e linfonodos dos caprinos dos G1 e G2 hiperplasia dos folículos linfóides com grande número de plasmoblastos. No pulmão dos caprinos n<sup>os</sup> 6 e 8 verificou-se pneumonia intersticial e edema pulmonar. Tais lesões foram caracterizadas por infiltrado linfoplasmocitário nos septos interalveolares, parede dos alvéolos e bronquíolos. Em algumas ocasiões o lúmen dos alvéolos e bronquíolos apresentou-se obstruído por material homogêneo eosinofílico, sugestivo de edema pulmonar.

Importantes lesões foram observadas no sistema nervoso central dos caprinos que apresentaram sinais neurológicos. Nesses animais foram verificados meningite (caprino n<sup>o</sup> 5) e meningoencefalite (caprinos n<sup>os</sup> 6 e 7). A meningite foi caracterizada pela presença de

infiltrado inflamatório constituído principalmente de linfócitos, plasmócitos, e, em menor grau, linfoblastos e plasmoblastos, além de células morulares (células de Mott) (Figura 12). A encefalite foi evidenciada por infiltrados perivascularares compostos de linfócitos, plasmócitos, macrófagos, alguns contendo hemossiderina e células morulares (células de Mott). Os infiltrados inflamatórios perivascularares foram mais intensos (até 16 camadas de células) e envolveram um maior número de vasos na substância branca cerebelar, pedúnculo cerebelar e ponte. No telencéfalo, na altura dos lobos temporal e occipital, mesencéfalo e tálamo foram observadas as mesmas lesões, porém em menor intensidade (Figura 13). Não foram verificadas lesões no sistema nervoso central dos animais dos grupos G1 e G3. Todas as amostras do SNC dos animais pertencentes ao grupo G1 e G2 revelaram-se positivas no diagnóstico por PCR. Fragmentos de 177 pb do domínio catalítico do gene Catepsina L, específico para o *T. vivax*, foram visualizados em gel de agarose a 2% em todas as amostras testadas. Deste modo, a análise do *T. vivax* nos tecidos do SNC através da PCR resultou em 100% de positividade para todos os caprinos dos grupos G1 e G2.

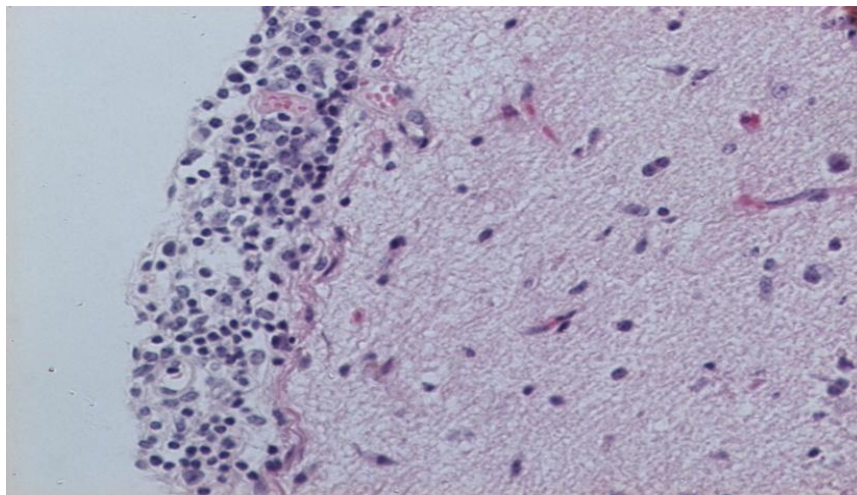


Figura 12- Meningite mononuclear observada no caprino 5 do grupo 2 infectado experimentalmente por *T. vivax*

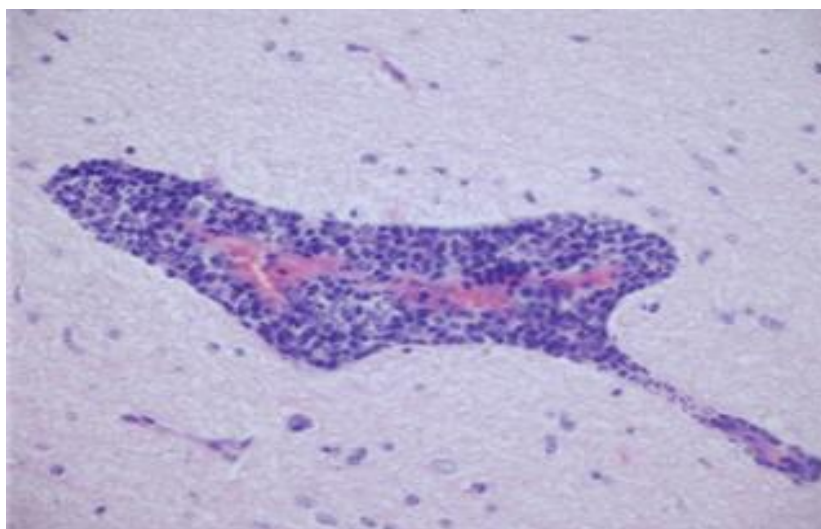


Figura 13- Infiltrado inflamatório perivascular mononuclear da substância branca cerebelar do caprino 6 do grupo 2 infectado experimentalmente por *T. vivax*.

A colheita e análise do LCR têm importância fundamental na tripanossomíase africana por definirem o período clínico da afecção e orientar a modalidade de tratamento a ser utilizada em cada caso (Veronesi, 1991). De modo geral, a resposta da infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em caprinos possibilitou demonstrar dois cursos clínicos da enfermidade. A fase aguda, que persistiu por aproximadamente duas semanas e foi caracterizada por hipertermia e parasitemia elevadas. E a fase crônica ou estágio final da doença, caracterizada por sinais clínicos de distúrbios neurológicos.

Os parâmetros físico-químicos do LCR dos caprinos podem constituir indicadores do estágio da enfermidade. *T. vivax* não foi observado no LCR dos animais do grupo G1, bem como não foram verificados sinais neurológicos ou diferença estatística significativa dos parâmetros físico-químicos do LCR quando comparados os valores com os caprinos do G3. À medida que a enfermidade evoluiu e os caprinos do G2 apresentaram sinais de distúrbios neurológicos, foram verificadas importantes alterações no LCR, como turbidez, pleiocitose, densidade elevada e aumento dos valores médios da proteína total, bem como hipoglicorraquia. Tais alterações podem ser associadas à presença do *T. vivax* no LCR.

Qualquer condição capaz de afetar as meninges e o encéfalo poderá produzir alterações inflamatórias capazes de elevar os valores dos constituintes do LCR acima dos

valores de referência. Como regra geral, agentes infecciosos promovem meningoencefalite com pleocitose e aumento da proteína total, que por sua vez modificam o aspecto do LCR de límpido para turvo e elevam os valores da densidade (Ravel, 1997). Dessa forma, as alterações verificadas no LCR dos caprinos do grupo G2 refletem a quebra do estado de higidez do sistema nervoso central pelo *T. vivax*.

O curso clínico da enfermidade e as alterações no LCR verificados no presente experimento também são observados e guardam estreita semelhança ao descrito na tripanossomíase áfrica humana provocada por *T. brucei* (Lejon e Buscher, 2005).

O quadro de meningoencefalite em humanos infectados por *T. brucei gambiense* é evidenciado quando a contagem de células ultrapassa o valor de 5 cel/ $\mu$ l de LCR. Fato semelhante foi verificado em três caprinos do G2, que apresentaram contagem média de 25 cel/ $\mu$ l no LCR, coincidindo com o quadro de meningoencefalite comprovado posteriormente no exame histológico.

A avaliação do LCR revelou que os caprinos do grupo G2 apresentaram valores médios de glicorraquia inferiores à faixa de referência para a espécie, além de uma redução significativa em relação aos valores encontrados nos animais dos grupos G1 e G3 (Pinheiro e Alves, 2000). A hipoglicorraquia é um achado importante em pacientes humanos com meningite infecciosa e decorre da diminuição do transporte de glicose através dos plexos coróides inflamados, assim como da maior utilização da glicose pelos tecidos do hospedeiro (Tavares e Bazin, 2005). Além disso, a diminuição dos níveis de glicose sérica é uma importante alteração bioquímica em bovinos infectados experimentalmente por *T. vivax* e está associada ao gasto energético provocado pela hipertermia e ao consumo de glicose sangüínea pelos tripanossomas (Kadima et al., 2000).

A ocorrência de sinais neurológicos associados à presença de tripanossomas no LCR de três caprinos do G2, bem como às lesões inflamatórias caracterizadas por meningoencefalite, demonstram a importância do *T. vivax* como responsável por manifestações clínico-patológicas do SNC. Complicações neurológicas associadas à infecção experimental por *T. vivax* também foram observadas por Whitelaw et al. (1988) que

constatarem a presença do *T. vivax* no LCR de cabras que apresentaram sinais nervosos e meningoencefalite.

A técnica de extração de DNA para posterior realização da reação em cadeia da polimerase (PCR), sensível e específica na detecção de *T. vivax* em animais parasitados, tem se aprimorado de modo que não apenas o sangue (Ventura et al., 2001), mas também tecidos (Bezerra et al., 2008) podem ser utilizados como amostras para a pesquisa do parasita. A localização extravascular do *T. vivax* assume importante papel na elucidação da patogênese de lesões nos diversos sistemas. Desta forma, o *T. vivax* foi detectado por PCR em tecidos do SNC pela primeira vez, e assim o parasita pode estar diretamente associado a lesões nesses sítios, contribuindo para o aparecimento das lesões histopatológicas e, conseqüentemente, para a expressão da sintomatologia nervosa.

É importante ressaltar a presença do *T. vivax* no parênquima do SNC identificado mediante a técnica da PCR nos caprinos do grupo G1. Esse fato sugere a invasão precoce do parasita no sistema nervoso central independente das alterações físico-químicas do LCR ou manifestações de distúrbios neurológicos. Sobre esse fato, Veronesi (1991) afirma que anomalias funcionais da região mesoencefálica, demonstrada por estudos eletroencefalográficos, provaram que a invasão do sistema nervoso central por tripanossomas pode ser precoce e coincidir com a fase de tripanossomas em circulação (fase hemolinfática) e só mais tarde tornam-se patentes as alterações do LCR e manifestação de distúrbios neurológicos (fase nervosa).

A associação de lesões encefálicas com a presença de tripanossomas foi também demonstrada na tripanossomíase por *T. evansi* durante surto que vitimou dezenas de eqüinos no Rio Grande do Sul (Rodrigues et al., 2005) Através da técnica de imunohistoquímica os citados autores identificaram exemplares do parasita no interior de vasos sanguíneos, na região perivascular e livres no parênquima encefálico de eqüinos que apresentaram lesões graves e fatais do SNC.

Meningoencefalite não purulenta em infecções por tripanossomas é relatada em eqüinos na enfermidade conhecida como mal das cadeiras, provocado por *T. evansi* (Cadioli, 2001; Rodrigues et al., 2005), na infecção por *T. congolense* em bovinos (Ikede e Losos,

1972) e na doença do sono africana em humanos provocada por *T. brucei rhodesiense* e o *T. brucei gambiense* (Poltera et al., 1977). Uma característica da meningoencefalite provocada por essas espécies de tripanossomos é a presença de células morulares (células de Mott), que são plasmócitos contendo grandes quantidades de imunoglobulinas e núcleo excêntrico. Apesar das diferenças etiológicas e topográficas das lesões, o padrão histológico observado no presente estudo, caracterizado por meningoencefalite não supurativa e presença de células de Mott, é semelhante ao observado nas citadas enfermidades.

A localização das lesões encefálicas descritas nos caprinos deste trabalho, que se apresentaram com maior intensidade no tronco encefálico, cerebelo e meninges, é notadamente semelhante às descritas em humanos infectados por *T. brucei gambiense*. De acordo com Veronesi (1991) nas zonas endêmicas de *T. gambiense*, os índices de evolução nervosa oscilam entre 50% e 90% dos casos e correspondem em geral a uma meningoencefalite difusa com predomínio de lesões na base do cérebro. O componente de ataxia cerebelosa é predominante e os doentes apresentam manifestação de incoordenação motora e falta de força muscular. Isso explica a manifestação de ataxia, incoordenação e fraqueza muscular, verificada nos caprinos do grupo G2.

Os mecanismos etiopatogênicos das lesões no SNC provocado por diversas espécies de tripanossomas permanecem em investigação. Alguns autores sugerem que as lesões ocorrem por alterações circulatórias provocadas por êmbolos formados por tripanossomas, leucócitos e fibrina nos capilares e vênulas do encéfalo (Ikede e Losos, 1972). Para Dumas e Boutielle (1996), reações imunomediadas estão envolvidas na patogênese das lesões, uma vez que anticorpos anti-SNC são descritos no fluido cérebro-espinhal em infecções por tripanossoma. Stiles et al. (2004) identificaram e caracterizaram um peptídeo derivado do *T. brucei* que induz a apoptose das células endoteliais vascular no cérebro e cerebelo. Recentemente, Masocha et al. (2007) realizaram estudo de migração do *T. brucei* pela barreira hematoencefálica de roedores, e concluíram que enquanto a composição membrana basal dos vasos intracerebrais determina os sítios de penetração do parasita no encéfalo, o interferon está envolvido no controle imunológico da infecção, facilitando a penetração do *T. brucei* através da membrana basal da barreira hematoencefálica.

A avaliação de caprinos infectados experimentalmente com isolado de *T. vivax* obtido durante surto em bovinos ocorrido no Sertão da Paraíba confirma o tropismo do *T. vivax* pelo SNC. Bovinos infectados naturalmente no referido surto apresentaram sintomatologia nervosa caracterizada por incoordenação, tremores musculares, opistótono, e hipermetria. Nesses animais foram observados meningoencefalite e malácia da substância branca cerebelar, tálamo e núcleos da base (Batista et al., 2007). O citado autor observou que a localização do tripanosoma no SNC é um agravante da enfermidade por promover recidivas clínica e parasitológica e elevar a mortalidade dos animais após o tratamento com droga tripanocida.

## 6. CONCLUSÕES

A alta prevalência da infecção natural por *T. vivax* em caprinos e ovinos no primeiro experimento sugere que esse parasita pode estar disseminado na região semi-árida devendo-se suspeitar sempre da doença quando os animais apresentarem febre, perda progressiva de peso, abortos e especialmente, anemia sem causa aparente. A investigação epidemiológica desse experimento preencheu a carência de informações sobre a tripanossomíase em pequenos ruminantes e sugere que as mortes e a baixa produtividade em caprinos e ovinos causada por *T. vivax* são comuns na região semi-árida. Uma vigilância epidemiológica necessita ser implementada nesta área para determinar se os surtos são devidos as recidivas de animais crônicos, a disseminação já estabelecida pelos animais ou a introdução de novos genótipos/sorotipos.

No segundo experimento, os resultados obtidos permitem sugerir que *T. vivax* deve ser considerado como agente etiológico de lesões cardíacas e que o comprometimento cardíaco deve ser considerado como importante manifestação clínica da enfermidade.

A meningoencefalite, os sinais nervosos, bem como as alterações na composição do LCR e a presença do tripanossoma na neurópila do encéfalo, confirmados por PCR, no terceiro experimento, demonstram a importância do *T. vivax* como responsável pelas manifestações clínico-patológicas do SNC em caprinos infectados experimentalmente.

## REFERÊNCIAS

- ADEIZA, A. A. et al. Comparative haematological changes in experimentally infected Savannah brown goats with *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma vivax*. **Afr. Jou. of Bio.** v. 7, p. 2295–2298, 2008.
- AKINWALE, O. P. et al. Study on the susceptibility of Sahel goats to experimental *Trypanosoma vivax* infection. **Vet. Par.**, v. 137, p. 210-213, 2006.
- ANOSA, V. O. Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. Review Article. **Vet. Med.**, v. 30, p. 717-741, 1983.
- BATISTA, J. S. et al. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pes. Vet. Bra.**, v. 28, p. 63-69, 2008.
- 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. **Vet. Par.**, v. 143, p. 174-181, 2007.
- BATISTA, J.S. et al. Experimental infection by *Trypanosoma vivax* in sheep. **Pes. Vet. Bra.**, v.26, n.1, p.31-37, 2006.
- BAWA, E. K. et al. Effects of *Trypanosoma vivax* on pregnancy yakansa sheep and the results of homidium chloride chemotherapy, **Theriogenology**, v. 54, p. 1033-1040, 2000.

BETANCOURT, A. Transmission prenatal Del *Trypanosoma vivax* de bovinos em Colômbia. **Rev. ICA Bog.**, n. 13, p.127-129, 1978.

BEZERRA, F. S. B. et al . *Trypanosoma vivax* nos tecidos testicular e epididimário de ovinos experimentalmente infectados. **Pes. Vet. Bra.**, v. 28, p. 575-582, 2008.

BLACK, S. J.; SEED, J. R.; MURPHY N. B. Innate and acquired resistance to African trypanosomiasis. **The Jou. of Par.**, v. 87, n. 1, p. 1-9, 2001.

BRENER, Z. **Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas.** 1961. 100fl. Tese (Livre docência)- Faculdade de Odontologia e Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1961.

CADIOLI, F.A. **Infecção experimental em jumento (*Equus asinus*) com *Trypanosoma evansi* Steel, 1885 (*Sarcomastigophora: Trypanosomatidae*).** 2001. 135f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

CAMUS, E.; MARTRENCAR, A. Infection expérimentale de zebus guyanais avec *Trypanosoma vivax*. **Rev. Éle. Med. Vet. des Pay. Tro.**, v. 4, n. 43, p. 467-472, 1990.

CARVALHO, A.U.; ABRÃO, D.C.; FACURY FILHO, E.J.; PAES, P.R.O.; RIBEIRO, M.F.B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arq. Bra. Med. Vet. Zoo.**, v. 60, n. 3, 2008.

CORDOVES, C. O. et al. *Trypanosoma vivax* Ziemann, 1905. Lista de transmisores mecánicos en Cuba. **Rev. Cub. de Cie. Vet.**, v. 13, n. 2, p. 219-221, 1982.

CORTEZ, A. P. et al. Cathepsin L like genes of *Trypanosoma vivax* from Africa and South America: characterization, relationships and diagnostic implication. **Mol. Cel. Probs.**, v. 24, p. 44-51, 2009.

DÁVILA, A.M.R. et al. Morphological and biometrical differences among *T. vivax* isolates from Brazil and Bolívia. **Mem. do Ins. Osw. Cru.**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 3, p. 357-358, 1997.

DESQUESNES, M. **Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America**. OIE e CIRAD., Paris. 2004, 190p.

DESQUESNES, M.; TRESSE, L. Evaluation de la sensibilité de la PCR pour la détection de l'ADN de *Trypanosoma vivax* selon divers modes de préparation des échantillons sanguins. Revue Élevage. **Med. Vet. des Pay. Tro.**, v. 49, p. 322-327, 1996.

DUMAS, M.; BOUTEILLE, B. Human African trypanosomiasis. **Com. Ren. Sea. Soc. Bio.**, v. 190, p. 395-408, 1996.

EISLER, M. C. et al. Sensitivity and specificity of antigen-capture ELISA for diagnosis of *Trypanosoma congulense* and *Trypanosoma vivax* infections in cattle. **Vet. Par.**, v. 79, p. 187-201, 1998.

EMERIBE, A. O. et al. Plaqueta aggregation inhibition in *Trypanosoma vivax* infection of sheep. **Cen. Afr. Jou. Med.**, v. 36, n. 1, p. 1-4, 1990.

ESUEVI, K. A.; SAROR, D. I. Leukocyto response in experimental *Trypanosoma vivax* infecion in cattle. **Jou. of Com. Pat.**, v. 93, n. 2, p. 165-169, 1983.

FACER, C. A.; CROSSKEY, J. M.; CLARKSON, M. J. Immune haemolytic anaemia in bovine trypanosomiasis. **Jou. of Com. Pat.**, v. 92, n. 3, p. 393-401, 1982.

FERREIRA NETO, J.M. et al. **Patologia Clínica Veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo, 1981, 79p.

GAMA, F.G.V. et al. Caracteres físico-químicos e citológicos do líquido de cães. **Cie. Rur.**, v.35, p.596-601, 2005.

GARDINER, P. R. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. **Adv. Par.**, v.28, p.229-317, 1989.

GUERRA, R. M. S. N. et al. Biometry of *Trypanossoma vivax* found calf the city of Maranhão, Brazil. **Cie. Rur.**, v. 38, n. 3, p. 833, 2008.

GUTIERREZ, et al. Trypanossomosis in goats: current status. **Ann. NY. Aca. Sci.**, v. 1081, p. 300-310, 2006.

HOARE, C. A. **The trypanosomiasis of mammals**: a zoological monograph. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1972. p. 55-93.

HIGUCHI, M.L. et al. Correlation between *Trypanosoma cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocardiitis: light microscopy and immunohistochemical findings. **Car. Pat.**, v.2, p.101-106, 1993.

HIGUCHI, M. L. et al. Histopathological Criteria of Myocarditis: A Study Based on Normal Heart, Chagasic Heart and Dilated Cardiomyopathy. **Jap. Cir. Jou.**, v. 54, p. 391-400, 1990.

IKEDE, B. O.; LOSOS, G. J. Hereditary transmission of *Trypanosoma vivax* in sheep. **Bri. Vet. Jou.**, v. 128, p. 1-2, 1972.

ISOON, T. T. The histopathology of experimental disease produced in mice infected with *Trypanosoma vivax*. **Aca. Tro.**, n. 3, v. 32, p. 267-272, 1975.

JAWETZ, E. et al. **Microbiologia médica**. 18 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 275-279.

JONES, T.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma vivax*: out of Africa. **Tre. in Par.**, v. 2, n. 17, p. 99-101, 2001.

JONES, T. C. et al. **Patologia veterinária**. 6 ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415 p.

JORDAN, A. M. **Tripanosomiasis control and African rural development**. New York: Logman, 1986.

KADIMA, K. B. et al. Serum biochemical values of *Trypanosoma vivax* infected cattle and effects of lactose in saline infusion. **Vet. Arh.**, v. 70, n. 2, p. 67-74, 2000.

KALU, A. U.; EDEGHERE, J. U.; LAWANI, F. A. Comparison of diagnostic techniques during subclinical single infections of tripanosomiasis in goats. **Vet. Par.**, v. 22, p. 37-47, 1986

KEMP, S. J.; TEALE, A. J. Genetic basis of trypanotolerance in cattle and mice. **Par. Tod.**, v. 14, n. 11, p. 450-454, 1998.

KIMETO, B. A.; MUGERA, G. M.; NYAGA, P. N. Haemorrhagic pancarditis in cattle infected with *Trypanosoma vivax*. **Vet. Par.**, v. 34, p. 295-301, 1990.

LEJON, V.; BUSCHER, P. Review article: cerebrospinal fluid in human african trypanomiasis: a key to diagnosis, therapeutic decision and post-treatment follow-up. **Tro. Med. Int. Hea.**, v. 10, n. 5, p. 395, 2005.

LEVINE, N. D. **Protozoan parasites of domestic animals and man**. 2 ed. Minneapolis: Burgess, 1973.

LINHARES, G.F.C. et al. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). **Cie. Ani. Bra.**, v. 7, n. 4, p. 455-460, 2006.

LOPEZ, G.; THOMPSON, K.C.; BAZALAR, H.. Transmisión experimental de *Trypanosoma vivax* por la garrapata *Boophilus microplus*. **Rev. del Ins. Col. Agr.**, v.14, p.93-96, 1979.

LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258 p.

MAIKAJE, D. B. et al. The course of experimental *Trypanosoma vivax* infection in Uda sheep. **Vet. Par.**, v. 38, p. 267-274, 1991.

MASAKE, R. A. et al. Sensitive and specific of *Trypanosoma vivax* using the polymerase chain reaction. **Exp. Par.**, v. 85, p. 193-205, 1997.

MASAKE, R. A. The pathogenesis of infection with *Trypanosoma vivax* in goats and cattle. **The Vet. Rec.**, v. 13, p. 551-557, 1980.

MASOCHA, W. et al. Migration of African Trypanosomes across the blood-brain barrier. **Phy. Beh.**, v.92, p.110-114, 2007.

MATTIOLI, R. C.; WILSON, R. T. Trypanosomes, tsetse and trypanotolerance: coevolution in tropical Africa. **Parasitology**, n. 38, p. 531-535, 1996.

MAXIE, M. G.; LOSOS, G. J.; TABEL, H. Experimental bovine trypanosomiasis (*Trypanosoma vivax* and *Trypanosma congulense*) I. Symptomatology and clinical pathology. **Tro. und Par.**, v. 30, p. 274-282, 1979.

MELLENDEZ, R.D.; FORLANO, M.; FIGUEROA, W..Perinatal infection with *Trypanosoma vivax* in a calf in Venezuela. **Jou. Par.**, v.79, p.293-294, 1993.

MURRAY, M.; TRAIL, J. C. M. Genetic resistance to animal trypanosomiasis in Africa. **Pre. Vet. Med.**, v.2, p.541-51, 1984.

MWONGELA, G. N.; KOVATCH, R. M.; FAZIL, M. A. Acute *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle in Coast Province, Kenya. **Tro. Ani. Hea. and Prod.**, v. 13, n. 2, p. 63-69, 1981.

MYLER, P. J. Molecular variation in trypanosomes. **Act. Tro.**, v. 53, p. 205-225, 1993.

OGWU, D. et al. Effects of experimental *Trypanosoma vivax* infection on first, second, and third-trimester pregnancy in heifers. **Theriogenology**, v. 25, p.383-398, 1986.

OKECH, G. et al. The effect of *Trypanosoma vivax* infection on late pregnancy and postpartum return to cyclicity in boran cattle. **Theriogenology**, v. 46, p. 859-869, 1996.

OLUBAYO, R. O.; MUGERA, G. M. The pathogenesis of haemorrhages in *Trypanosoma vivax* infection. II. Pathomorphological changes. **Bul. of Ani. Hea. and Prod. in Afr.**, v. 35, n. 4, p. 286-292, 1987.

OLUBAYO, R. O.; MUGERA, G. M. Patogénese de haemorrhages in *Trypanosoma vivax* in cattle. I. Disseminated intravascular coagulation. **Bul. of Ani. Hea. and Prod. in Afr.**, v. 33, n. 3, p. 211-217, 1985.

OSÓRIO, J.C.S.; OSÓRIO, M.T.M. **Produção de carne ovina**: técnicas de avaliação “in vivo” e na carcaça. 2 ed. Pelotas: editora e gráfica universitária/ UFPEL, 2003. 73p.

OTTE, M. J.; ABUABARA, J. Y.; WELLS, E. A. *Trypanosoma vivax* in Colombia: epidemiology and production losses. **Tro. Ani. Hea. and Prod.**, v. 26, p. 146-156, 1994.

OTTE, M. J.; ABUABARA, J. Y. Transmisión of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. **Act. Tro.**, v. 49, p. 73-76, 1991.

PAIVA, F. et al. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. I. Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. **Rev. Bras. Par. Vet.**, v. 9, p.135-141, 2000.

PALOMINO, S. A. P. et al. Systematic mapping of hearts from chronic chagasic patients: association between the occurrence of histopathological lesions and *Trypanosoma cruzi* antigens. **Ann. Tro. Med. and Par., Liv. Sch. of Tro. M.**, v. 94, n. 6, p. 571-579, 2000.

PEREGRINE, A. S. Chemotherapy and delivery systems haemoparasites. **Vet. Par.**, v. 5, p. 223, 1994.

PINHEIRO, R.R.; ALVES, F.S.F. Valores de alguns componentes do líquido cefalorraquidiano em caprinos no semi-árido do Nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.22, p.246-247, 2000.

POLTERA, A. A. et al. Pathological aspects of human african trypanosomiasis (HAT) in Ungada. **Vir. Arc.**, v.373, p.249-265, 1977.

RADOSTITS, O.M. et al. **Veterinary Medicine**. 9 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000.

RAVEL, R. **Laboratório clínico**: aplicações clínicas dos dados laboratoriais. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 1997. 616p.

REIFENBERG, J. M. et al. Molecular characterization of trypanosomes isolates from naturally infected domestic animals in Burkina Faso. **Vet. Par.**, v. 71, p. 251-262, 1997.

RODRIGUES, A. C. et al. Phylogeny of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* and related trypanosomes reveals lineages of isolates associated with artiodactyls hosts diverging on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology.**, v. 32, p. 215-224, 2006.

RODRIGUES, A. C et al. Surtos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em eqüinos no Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. **Pes. Vet. Bra.**, v.25, p.239-249, 2005.

SAS. **User's Guide**. 6th ed. Statistical Analysis System, Cary. 1999. 956p.

SERRA FREIRE, N. M. Oiapoque – outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 4, n. 4, p. 30-31, 1981.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Ann. Tro. Med. and Par.**, v. 66, p. 25-32, 1972.

SILVA, R.A.M.S. et al. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. 141 p.

SILVA, R.A.M.S. et al. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Mem. Ins. Osw. Cru.**, v.91, n.5, p.561-562, 1996.

STANGHELINE, A.; ROUX, J. F. Technics of detection and diagnosis of African trypanosomíasis un humans. **Med. Tro.**, v. 44, n. 3, p. 361-367, 1994.

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

STEPHEN, L.E. Clinical manifestations of the trypanosomiasis in livestock and other domestic animals. **The Afr. Try.** London : 1970. p. 774-94.

STILES, J. K. et al. Trypanosome apoptotic factor mediates apoptosis in human brain vascular endothelial cells. **Mol. Bio. Par.**, n.133, p.229-240, 2004.

TAVARES, W. ; BAZIN, A. R. Meningoencefalites. In: TAVARES, W.; MARINHO, L.A.C. (Eds.). **Rotinas de Diagnóstico e Tratamento das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005. p.749-765.

THOMPSON, J. H. et al. **Microbiologia médica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p. 280-282.

TORO, M. et al. Effect of isomemidium on infections by *Trypanosoma vivax* and *T. evansi* in experimentally infected animals. **Vet. Par.**, v. 13, n. 1, p. 35-43, 1983.

UGOCHUKWU, E. L. Haematologia observations on bovine trypanosomiasis of Holstein Friesian breed. **Int. Jou. Zoo.**, v. 23, n. 2, p. 89-92, 1986.

VAN DAM, J. T. P. et al. The effect of previous growth retardation on energy and nitrogen metabolism of goats infected with *Trypanosoma vivax*. **Bri. Jou. of Nut.**, v. 77, p. 427-441, 1997.

VARGAS, T. M.; ARELLANO, S. C. La tripanosomiasis bovina en América Latina y el Caribe. **Vet. Mon.**, v. 33, p. 136, p. 17-21, 1997.

VENTURA, R. M. et al. *Trypanosoma vivax*: characterization of the spliced-leader gene for a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic space sequence. **Exp. Par.**, v. 99, p. 37-48, 2001.

VERONESI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1082p.

VERTEGEN, M. W. A. et al. Effect of *Trypanosoma vivax* infection on the energy and nitrogen metabolism of West African Dwarf Goats. **Jou. Ani. Sci.**, v. 69, p. 1667-1677, 1991.

VOS, G. J. et al. Susceptibility of goats to tsetse transmitted challenge with *Trypanosoma vivax* from East and West Africa. **Parasitology.**, v. 96, p. 25-36, 1998.

WELLDER, B. T. et al. Haemorrhagic syndrome in cattle associated with *Trypanosoma vivax* infection. **Tro. Ani. Hea. and Pro.**, v. 2, n. 15, p. 95-102, 1983.

WHITELAW, D. D.; GARDINER, P. R.; MURRAY. Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. **Parasitology**, n. 97, p. 51-61, 1988.

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. **Act. Tro.**, n. 27, p. 384-386, 1970.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease** - Tropical diseases progress in research. Geneva: WHO, 1991. p. 69-77. (WHO Technical Report Series).

ZAPATA, A. La afección de los ganados llamada vulgarmente "huequera", "secadera", "cachohueco". **Rev. Med. Vet.**, v. 3, p. 165-180, 1931.

## **ANEXOS**

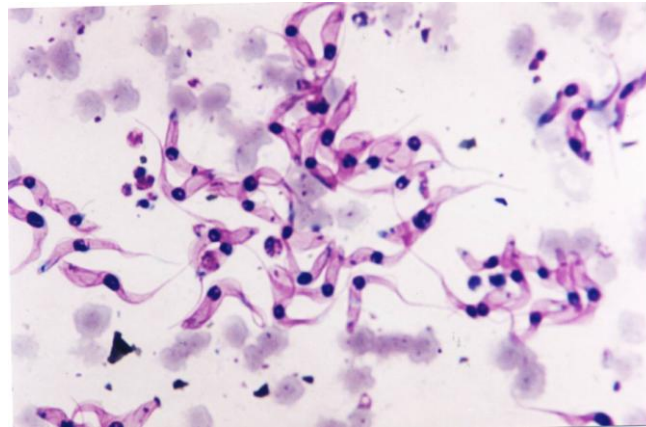


Figura 1- Tripomastigota sangüínea de *T. vivax*. HE. Obj. 100x.



Figura 2- Ascite no ovino 6 infectado experimentalmente por *T. vivax*.

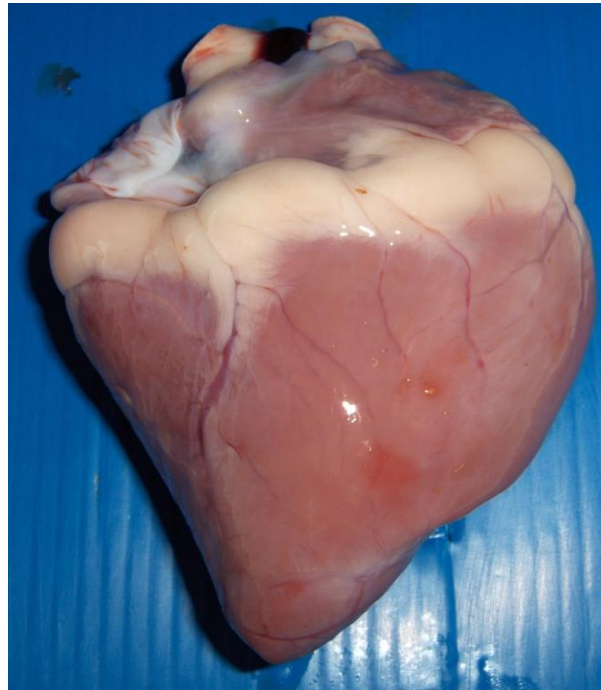


Figura 3- Moderado aumento de volume do ventrículo esquerdo, áreas focais branco-amarelada no miocárdio de ovino experimentalmente infectado por *T. vivax*.

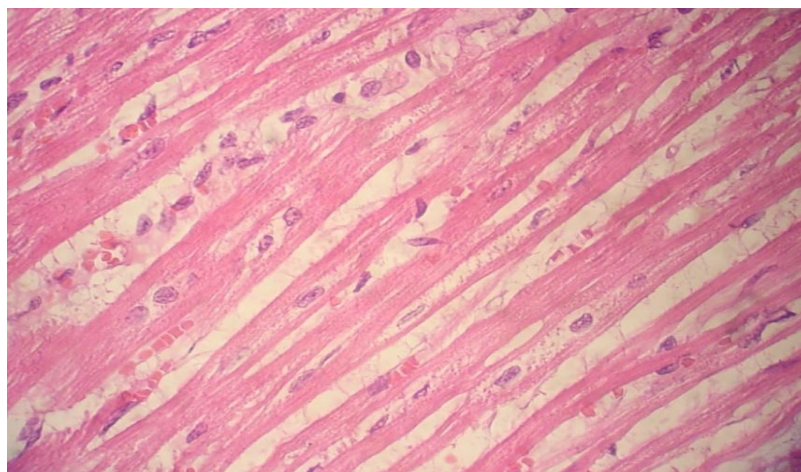


Figura 4- Necrose hialina e edema das fibras cardíacas no coração de ovino infectado experimentalmente por *T. vivax* na fase aguda. HE, obj. 40.

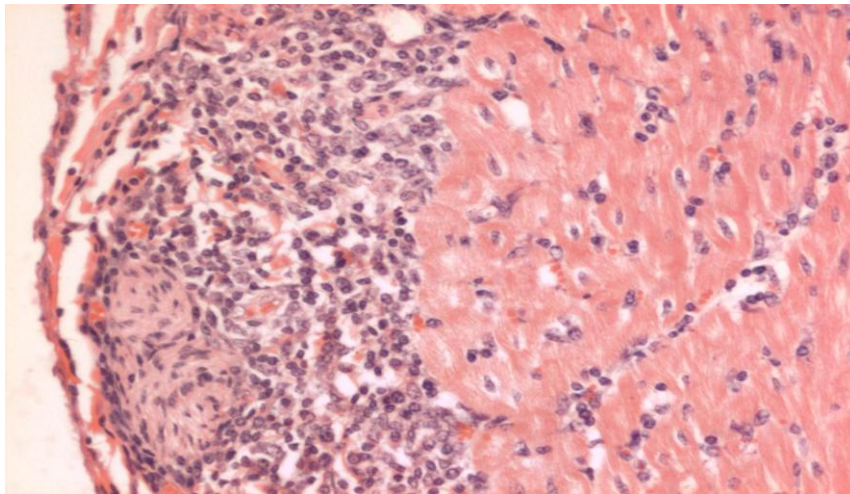


Figura 5- Pericardite mononuclear no ovino 8, infectado experimentalmente por *T. vivax*. HE, obj. 20.

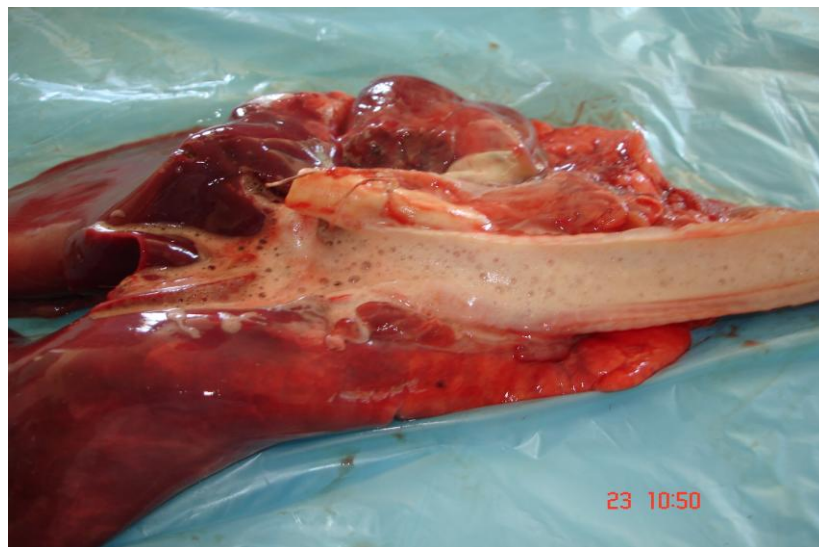


Figura 6- Edema pulmonar e hepatização dos lobos diafragmáticos no caprino nº 04, infectado experimentalmente por *T. vivax*.