

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma evansi*  
EM EQÜINOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Aline Rodrigues**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2006**

**INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma evansi* EM  
EQÜINOS**

**por**

**Aline Rodrigues**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em **Patologia Veterinária**, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**

**Orientador: Claudio Severo Lombardo de Barros**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma evansi* EM EQUÍNOS**

elaborada por  
**Aline Rodrigues**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Claudio Severo Lombardo de Barros, PhD**  
(Presidente/Orientador)

**Ana Lucia Schild, Dra.** (UFPel)

**David Driemeier, Dr.** (UFRGS)

Santa Maria, 30 de junho de 2006.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Santa Maria, pela universidade pública, gratuita e de qualidade.

Ao CNPq, pelo financiamento da bolsa durante o período do mestrado.

Ao professor Claudio Barros, por ser um excelente professor e orientador, além de grande amigo.

À professora Dominguita, pela orientação durante a graduação, pelos ensinamentos e pela amizade.

Aos professores Luiz Francisco e Gláucia pelos ensinamentos e pelo apoio.

Aos colegas Rafael Figuera e Tatiana Mello de Souza, pela grande contribuição para realização dessa dissertação.

Aos colegas que convivi no laboratório e que de alguma maneira auxiliaram para que essa dissertação fosse concluída.

Ao Serginho, Sérgio e Andréia, pela confecção das lâminas e pela convivência.

À Fazenda Itapororó e ao Médico Veterinário Joaquim Milano, pelo auxílio e fornecimento de parte do material para que essa dissertação fosse realizada.

À Dra. Ana Lúcia Schild pela disponibilidade de parte do material usado nessa dissertação.

Ao professor David Driemeier, pela disponibilidade do SPV para realização das fotos microscópicas.

À minha família, pela educação, apoio e carinho.

Ao Leo, pelo companheirismo, amor e dedicação.

Aos amigos da graduação, pela participação em grande parte do período acadêmico.

Obrigado a todos.

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma evansi* EM EQUINOS

AUTOR: Aline Rodrigues

ORIENTADOR: Claudio Severo Lombardo de Barros

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 30 de junho de 2006.

Casos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* foram diagnosticados em equinos no Rio Grande do Sul entre 2003 e 2006. Em uma propriedade (Propriedade A) com 125 equinos, 53 morreram. A Propriedade A recebeu ao redor de 80 éguas de outras propriedades para cobertura. Dessas, 66 adoeceram e 56 morreram após voltarem para suas propriedades de origem. A doença clínica observada em 23 equinos caracterizava-se por emagrecimento (apesar de apetite voraz), letargia, incoordenação e instabilidade dos membros pélvicos, atrofia das grandes massas musculares dos membros pélvicos, fraqueza muscular e palidez das mucosas. Exemplos de *T. evansi* foram observados na corrente sanguínea de 4 equinos. Anemia normocítica normocrômica, com hematócritos que variavam de 15-31%, e leucocitose por linfocitose associada à presença de linfócitos atípicos foram observadas em vários equinos. Altos níveis de anticorpos contra *T. evansi* foram detectados em 15 equinos. Dez equinos desenvolveram um quadro neurológico encefálico caracterizado por andar em círculos, ataxia, cegueira, hiperexcitabilidade, quedas, embotamento, déficits proprioceptivos e desvio da cabeça. Um equino desenvolveu “posição de cão sentado”. Nas 15 necropsias, havia esplenomegalia, linfadenomegalia, hiperplasia linfóide no baço e linfonodo e atrofia das grandes massas musculares dos membros pélvicos. Sete dos nove equinos com um quadro neurológico encefálico que foram necropsiados apresentavam lesões encefálicas macroscópicas assimétricas que consistiam de achatamentos dos giros e áreas amarelas e amolecidas focalmente extensas na substância branca. Histologicamente, uma panencefalite necrosante avassaladora foi observada em todos os 9 equinos. Essa panencefalite era caracterizada por acentuado edema, desmielinização, malacia e infiltrado perivascular de até 20 fileiras de células mononucleares afetando principalmente a substância branca. Vários plasmócitos no infiltrado inflamatório continham numerosos glóbulos eosinofílicos (células de Mott) ou material vermelho-brilhante (células em flama) em seus citoplasmas. Meningiomielite e/ou meningite leve ou moderada foram observadas na medula espinhal de 5 equinos. Lesões semelhantes foram observadas na medula espinhal do equino que desenvolveu “posição de cão sentado”. Os encéfalos de 9 equinos com quadro encefálico foram submetidos à técnica de imunistoquímica estreptoavidina-biotina; em oito observou-se a marcação de números moderados ou elevados de espécimes de *T. evansi* pelo anticorpo específico nos espaços perivasculars e na neurópila.

**Palavras-chave:** Tripanossomíase, *Trypanosoma evansi*, doenças infecciosas, encefalite, hematologia, patologia, neuropatologia, imunistoquímica, doenças de equinos.

## ABSTRACT

MS Dissertation  
Graduate Program in Veterinary Medicine  
Universidade Federal de Santa Maria

### NATURAL INFECTION BY *Trypanosoma evansi* IN HORSES

AUTHOR: Aline Rodrigues  
ADVISER: Claudio Severo Lombardo de Barros  
Santa Maria, June 30, 2006

Cases of trypanosomiasis by *Trypanosoma evansi* were diagnosed in horses in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, between 2003 and 2006. In one stud farm (Farm A) with 125 horses, 53 died. Additionally, around 80 mares were sent to Farm A to be bred. Of those, 66 became ill and 56 died after being returned to their farms of origin. Twenty three horses clinically affected by the disease were observed. Clinical signs included loss of weight (despite voracious appetite), lethargy, incoordination and instability of hindlimbs, atrophy of the large muscles of the hindlimbs, muscle weakness and paleness of mucosae. Specimens of *T. evansi* were detected in the blood drawn from four affected horses. Normocytic normochromic anemia with PCVs ranging from 15 to 31%, leucocytosis due to lymphocytosis associated to large atypical lymphocytes was observed in several affected horses. High levels of antibodies against *T. evansi* were detected in the serum of fifteen horses. Ten horses presented encephalic neurological signs such as circling, ataxia, blindness, excitation, falls, listlessness, proprioception deficits and head tilt. One horse assumed a “dog-seating position”. Necropsy findings included muscle atrophy, enlargement and lymphoid hyperplasia of the spleen and lymphnodes. Seven out of the 9 necropsied horses with encephalic signs had asymmetrical gross lesions in the brain consisting of flattening of gyri and focal extensive areas of yellow discoloration and softening of white matter. Histologically, an overwhelming necrotizing panencephalitis was observed in all 9 horses with encephalic neurological signs. This panencephalitis was characterized by marked edema, demyelination and malacia, and perivascular infiltrates of up to 20 rows of mononuclear cells affecting mainly the white matter. Several plasma cells in the inflammatory infiltrate contained numerous eosinophilic globules (Mott cells) or homogenous bright-red material (flame cells) in their cytoplasm. Mild to moderate meningomyelitis and/or meningitis were observed in the spinal cord of 5 horses. Similar histological lesions were observed in the spinal cord of the horse with the “dog-seating position”. The brains of nine horses with the encephalic signs were submitted to immunohistochemistry stain by the streptavidin-biotin technique. In eight brains moderate to abundant specimens of *T. evansi* in the perivascular spaces and neuropile were marked by the specific antibody.

**Key-words:** Trypanosomiasis, *Trypanosoma evansi*, infectious diseases, encephalitis, hematology, pathology, neuropathology, immunohistochemistry, diseases of horses.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Estrutura dos tripanossomas observada na microscopia de luz (segundo Hoare, 1972)..... 43
- FIGURA 2 – Ultra-estrutura esquemática dos tripanossomas. Abreviaturas usadas: **b**, corpo basal; **e**, endossomo; **er**, retículo endoplasmático; **fl**, flagelo; **fp**, bolsa flagelar; **g**, complexo de Golgi; **kn**, cinetoplasto; **m**, mitocôndria; **mc**, crista mitocondrial; **n**, núcleo; **pc**, corda paraxial; **pm**, microtúbulos peliculares; **ri**, ribossomas; **um**, membrana ondulante (segundo Hoare, 1972). ..... 43
- FIGURA 3 – Ultra-estrutura esquemática do cinetoplasto. **A.** Aspecto tridimensional do cinetoplasto. **B.** organização das fibrilas de DNA no cinetoplasto. **C.** Aspecto do cinetoplasto no interior da mitocôndria. **D.** *T. vivax* (tripomastigota sanguíneo). **E.** *T. congolense* (tripomastigota sanguíneo). **F.** *T. brucei* (tripomastigota no intestino da mosca tsé-tsé). **G.** *T. brucei*, *T. evansi*, *T. equiperdum* (tripomastigota sanguíneo). **H.** Forma discinetoplástica do *T. evansi* (segundo Hoare, 1972). ..... 44
- FIGURA 4 – Hemisfério de eqüino seccionado longitudinalmente. Vista medial do encéfalo. As linhas numeradas indicam os locais onde foram efetuados os cortes coronais para estudo da distribuição das lesões histológicas no encéfalo. **1**, bulbo na altura do óbex; **2**, cerebelo; **3**, ponte na altura dos pedúnculos cerebelares; **4**, mesencéfalo na altura dos colículos rostrais; **5**, córtex occipital; **6**, seção do diencéfalo na altura da massa intermédia, e **7**, seção através do joelho do corpo caloso e dos núcleos basais. .... 49

FIGURA 5 – Seções obtidas dos sete locais mostrados na Figura 4. Essas seções indicam os locais onde foram realizados cortes histológicos para estudo da distribuição das lesões. <b>BO</b> , bulbo; <b>CE</b> , cerebelo; <b>PE</b> , ponte; <b>ME</b> , mesencéfalo; <b>CO</b> , córtex occipital; <b>CP</b> , córtex parietal; <b>HC</b> , hipocampo; <b>TA</b> , tálamo; <b>CF</b> , córtex frontal; e <b>NB</b> , núcleos basais. ....	49
FIGURA 6 – Localização da propriedade A no Rio Grande do Sul onde ocorreram casos de tripanossomíase por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos.....	58
FIGURA 7 – Propriedade A. Invernada da Barra (ver Figura 6), onde os eqüinos foram mantidos durante a temporada de 2002-2003.....	58
FIGURA 8 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 2. Emagrecimento e atrofia do músculo semimembranáceo. ....	59
FIGURA 9 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 23. Incoordenação e instabilidade dos membros pélvicos. Nota-se acentuada atrofia dos músculos da garupa. ....	59
FIGURA 10 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos apresentados por 23 eqüinos com tripanossomíase. ....	60
FIGURA 11 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 21, que desenvolveu a forma crônica e não recuperou a condição corporal. ....	61
FIGURA 12 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 18. Ataxia. Esse eqüino também andava em círculos e tinha déficits de propriocepção acentuados. ....	61
FIGURA 13 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 18. O andar atáxico pode ser percebido pelos membros torácicos afastados e pelo cruzamento dos membros pélvicos. ....	62
FIGURA 14 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 18, iniciando queda.....	62



FIGURA 15 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 23, com andar em círculos arrastando o membro pélvico esquerdo.....	63
FIGURA 16 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 14. Sinais neurológicos encefálicos que provocaram colapso do corpo sobre os membros torácicos.....	63
FIGURA 17 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Hematologia. Eqüino 21. Aglomerados de grandes linfócitos no esfregaço sangüíneo. Panótico rápido.....	64
FIGURA 18 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Hematologia. Eqüino 3. Um macrófago fagocitando um eritrócito pode ser observado na parte central da figura, no esfregaço sangüíneo. Na parte inferior esquerda da figura há um aglomerado de grandes linfócitos. Panótico rápido.....	64
FIGURA 19 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Hematologia. Eqüino 3. Quatro exemplares de <i>Trypanosoma evansi</i> podem ser observados no esfregaço sangüíneo. Panótico rápido.....	65
FIGURA 20 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 16. Superfície de corte do baço mostrando hiperplasia dos folículos linfóides.....	65
FIGURA 21 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 18. Achatamento das circunvoluções do encéfalo e prolapso subtentorial do lobo occipital (*). .....	66
FIGURA 22 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 19. Superfície de corte do encéfalo mostrando assimetria dos hemisférios telencefálicos. A assimetria é causada por edema da substância branca do hemisferio à direita. ....	66
FIGURA 23 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 22. Áreas focalmente extensas, amarelas, gelatinosas e distendidas são observadas no lado direito do mesencéfalo, tálamo e núcleos basais. ....	67

FIGURA 24 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 22. Aproximação da figura anterior. ....	67
FIGURA 25 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 22. Aspecto aproximado do tálamo mostrando área focalmente extensa de edema e malacia caracterizada por área amolecida e amarelada. ....	68
FIGURA 26 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 16. Hemorragia nos giros telencefálicos. ....	68
FIGURA 27 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Baço. Hemossiderose. Acúmulo de pigmento marrom-castanho (hemossiderina) no citoplasma de macrófagos. Hematoxilina e eosina. ....	69
FIGURA 28 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Baço. Hemossiderose. Observe a grande quantidade de pigmento corado de azul. Azul da Prússia. ....	69
FIGURA 29 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 16. Linfonodo. Hiperplasia. Celularidade aumentada com predomínio de plasmoblastos plasmócitos e numerosas células de Mott. Hematoxilina e eosina. ....	70
FIGURA 30 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 9. Linfonodo. Hemossiderose. Observe a abundante quantidade de pigmento castanho (hemossiderina) no citoplasma de macrófagos. Hematoxilina e eosina. ....	70
FIGURA 31 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Fígado. Hemossiderose. Observe o pigmento castanho (hemossiderina) no citoplasma de hepatócitos (seta) e células de Kupffer (cabeça de seta). Hematoxilina e eosina. ....	71
FIGURA 32 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Fígado. Hemossiderose, observe o pigmento corado de azul no interior do citoplasma de hepatócitos (setas) e células de Kupffer (cabeça de seta). Azul da Prússia. ....	71

FIGURA 33 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 2. Músculo estriado da coxa com infiltrado inflamatório mononuclear entre as fibras e hemossiderose. Hematoxilina e eosina.....	72
FIGURA 34 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Infiltrado inflamatório perivascular leve. Hematoxilina e eosina. ....	72
FIGURA 35 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo. Infiltrado inflamatório perivascular moderado. Hematoxilina e eosina.....	73
FIGURA 36 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo. Infiltrado linfoplasmocitário perivascular acentuado e numerosos vacúolos na neurópila. Hematoxilina e eosina. ....	73
FIGURA 37 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo e meninges. Infiltrado linfoplasmocitário meníngeo e perivascular acentuado. Hematoxilina e eosina. ....	74
FIGURA 38 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 23. Encéfalo. Plasmócitos com grânulos eosinofílicos no citoplasma (células de Mott) em meio ao infiltrado inflamatório perivascular. Hematoxilina e eosina. ....	74
FIGURA 39 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 23. Encéfalo. Plasmócitos com grânulos eosinofílicos no citoplasma (células de Mott) isolados na neurópila edemaciada (setas). Hematoxilina e eosina. ....	75
FIGURA 40 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo. Tumefação acentuada do endotélio de vasos do encéfalo. Hematoxilina e eosina. ....	75
FIGURA 41 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 22. Encéfalo. Gliose focal. Hematoxilina e eosina.....	76
FIGURA 42 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo. Gliose difusa. Hematoxilina e eosina. ....	76

FIGURA 43. Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Os macrófagos no infiltrado perivascular contêm pigmento castanho (hemossiderina) no citoplasma. Há grande quantidade de plasmoblastos no infiltrado perivascular, células inflamatórias em mitose (cabeça de seta) e macrófagos fagocitando eritrócitos (seta). Hematoxilina e eosina. ....	77
FIGURA 44 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Hemorragia focal. Hematoxilina e eosina. ....	77
FIGURA 45 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Presença de astrócitos de Alzheimer tipo II, caracterizadas por pares de células com núcleo tumefeito e cromatina rarefeita. Hematoxilina e eosina. ....	78
FIGURA 46 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Esferóides axonais (setas) associados a acentuado infiltrado inflamatório perivascular. Hematoxilina e eosina. ....	78
FIGURA 47 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Edema e malacia. À esquerda aparece grande acúmulo de material róseo-claro homogêneo (edema) dissociando os tratos da substância branca. Hematoxilina e eosina. ....	79
FIGURA 48 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Edema e malacia. Em maior aumento podem-se perceber várias células “gitter” associadas ao edema e à malacia. Hematoxilina e eosina. ....	79
FIGURA 49 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 11. Medula espinhal lombar. Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário acentuado, edema e focos de malacia. Hematoxilina e eosina. ....	80
FIGURA 50 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 11. Medula espinhal lombar. Infiltrado inflamatório meníngeo e perivascular acentuado na porção ventral da medula. Hematoxilina e eosina. ....	80

FIGURA 51 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 11. Medula espinhal lombar. Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário leve e tumefação dos núcleos das células endoteliais. Hematoxilina e eosina. ....	81
FIGURA 52 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Distribuição e intensidade das alterações histológicas totais no sistema nervoso central. ....	81
FIGURA 53 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Distribuição e intensidade do infiltrado inflamatório no sistema nervoso central.....	82
FIGURA 54 – Infecção natural por <i>Trypanosoma evansi</i> em eqüinos. Imunoistoquímica. Eqüino 18. Numerosos exemplares de <i>T. evansi</i> aparecem marcados na neurópila em cortes do encéfalo.....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Nome comum, transmissão e patogenicidade das <i>Trypanosoma</i> spp. pertencentes à seção Salivaria.....	42
Tabela 2 - Dados de 23 eqüinos estudados nos surtos de tripanossomíase por <i>Trypanosoma evansi</i> .....	47
Tabela 3 - Órgãos coletados dos eqüinos necropsiados com sinais clínicos de tripanossomíase por <i>Trypanosoma evansi</i> .....	48
Tabela 4 – Sinais clínicos apresentados pelos eqüinos naturalmente infectados por <i>Trypanosoma evansi</i> .....	56
Tabela 5 – Determinação das proteínas séricas de cinco eqüinos com tripanossomíase por <i>Trypanosoma evansi</i> .....	57

## LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 7) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	110
APÊNDICE 2 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 8) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	111
APÊNDICE 3 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 14) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	112
APÊNDICE 4 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 16) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	113
APÊNDICE 5 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 17) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	114
APÊNDICE 6 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 18) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	115
APÊNDICE 7 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 19) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	116
APÊNDICE 8 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 22) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	117

APÊNDICE 9 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüino (Eqüino 23) afetado por <i>Trypanosoma evansi</i> . .....	118
---	-----



## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>4</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>7</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>14</b>
<b>LISTA DE APÊNDICES</b> .....	<b>15</b>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>17</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>20</b>
<b>2.1 Tripanossomíases</b> .....	<b>20</b>
2.1.1 Introdução .....	20
2.1.2 Etiologia .....	20
2.1.3 Epidemiologia.....	23
2.1.4 Patogênese .....	27
2.1.5 Sinais Clínicos .....	29
2.1.6 Alterações laboratoriais .....	32
2.1.7 Achados de necropsia e histopatologia.....	33
2.1.8 Diagnóstico laboratorial .....	37
2.1.9 Tratamento e controle.....	39
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>45</b>
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>50</b>
<b>4.1 Epidemiologia</b> .....	<b>50</b>
<b>4.2 Sinais clínicos</b> .....	<b>51</b>
<b>4.3 Hematologia</b> .....	<b>51</b>
<b>4.4 Sorologia</b> .....	<b>52</b>
<b>4.5 Achados de necropsia e histopatologia</b> .....	<b>53</b>
<b>4.6 Imunoistoquímica</b> .....	<b>54</b>
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>83</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>94</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>95</b>
<b>8 APÊNDICES</b> .....	<b>109</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A doença causada por *Trypanosoma evansi* é comumente denominada surra, derrengadera, “mal das cadeiras” ou “peste quebra-bunda”, dependendo do local do mundo onde ocorre. No passado, *T. evansi* foi também denominado *T. equinum*, *T. hippicum* e *T. venezuelense*. No Brasil, *T. evansi* afeta principalmente eqüinos e a prevalência da infecção varia de região para região. A doença é enzoótica em eqüinos do Pantanal mato-grossense, onde assume importância econômica devido à grande população de eqüinos (49.000) da região. Ali, a tripanossomíase por *T. evansi* é também descrita em cães, capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), quatis (*Nasua nasua*), bovinos, búfalos, pequenos marsupiais (por exemplo, guaiaquicas [*Monodelphis* spp]) e tatus (*Dasypus* spp). Segundo relatos de pecuaristas pantaneiros, a tripanossomíase em eqüinos geralmente é precedida por surtos da doença em capivaras.

*T. evansi* pode ser transmitido mecanicamente por insetos hematófagos das famílias Tabanidae e Stomoxidae e por morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*). A doença causada por *T. evansi* é caracterizada por rápida perda de peso, graus variáveis de anemia, febre intermitente, edema dos membros pélvicos e das partes baixas do corpo e fraqueza progressiva. Os animais afetados podem morrer dentro de semanas ou poucos meses, mas podem ocorrer infecções crônicas com evolução de muitos meses. Sinais neurológicos encefálicos têm sido raramente descritos na fase terminal da doença em eqüinos; bovinos, veados e búfalos infectados naturalmente.

Embora existam vários trabalhos que descrevem a tripanossomíase em eqüinos no Brasil, inclusive com a reprodução experimental da doença, há ainda lacunas na epidemiologia e patologia da tripanossomíase em eqüinos no país.

O objetivo deste trabalho é descrever os surtos de tripanossomíase por *T. evansi* que resultaram na morte de pelo menos 100 eqüinos no Rio Grande do Sul. Serão relatados aqui os dados epidemiológicos, clínicos, hematológicos, os aspectos patológicos e a distribuição

das lesões inflamatórias no sistema nervoso central de 9 desses equinos acrescidos da demonstração do parasita no encéfalo por imunistoquímica.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Tripanossomíases

#### 2.1.1 Introdução

As tripanossomíases são doenças de pessoas e animais domésticos que resultam da infecção por um dos muitos protozoários do gênero *Trypanosoma*. Em geral, são caracterizadas pelo aparecimento intermitente de parasitas no sangue dos indivíduos infectados e anemia. Adicionalmente, os animais afetados apresentam perda de peso e redução da produtividade. Muitas vezes, ocorre alta mortalidade em surtos da doença (Connor & Van Den Bossche, 2004). A primeira descrição associando tripanossomas com doença foi feita na Índia por Griffith Evans (1881), que descreveu tripanossomas (hoje identificados como *T. evansi*) no sangue de eqüinos e camelos, embora a doença já fosse observada há muitos séculos. Evans acreditou que a fonte primária da infecção para os animais fosse as águas poluídas. Mais tarde, Steel (1885) encontrou o mesmo agente no sangue de mulas (Hoare, 1972).

No Brasil, a doença causada por *T. evansi* foi inicialmente observada na Ilha de Marajó, entre 1827 e 1830, local onde se iniciaram epizootias graves entre os eqüinos da região. Da Ilha de Marajó a doença se espalhou pela América do Sul, estendendo-se pelo Brasil, Guiana, Bolívia, Venezuela e Colômbia (Hoare, 1972).

Serão abordados nesta revisão aspectos relacionados à tripanossomíase causada por *T. evansi* e pelos principais tripanossomas pertencentes à seção Salivaria.

#### 2.1.2 Etiologia

Os tripanossomas são microorganismos pertencentes ao reino Protista, filo Protozoa, sub-filo Sarcomastigophora, superclasse Mastigophora, classe Zoomastigophora, ordem Cinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Trypanosoma*. Os tripanossomas podem ser distribuídos em duas seções, Salivaria, aqueles transmitidos por picadas de vetores biológicos, e Stercoraria, pela contaminação da pele ou das mucosas do hospedeiro com as fezes do vetor (Hoare, 1972). Os tripanossomas da seção Salivaria são altamente patogênicos para pessoas e animais domésticos e estão distribuídos em quatro subgêneros: *Trypanozoon* (*T. brucei*, *T. evansi*, *T. equiperdum*), *Nannomonas* (*T. congolense*, *T. simiae*), *Duttonella* (*T. vivax*) e *Pycnomonas* (*T. suis*) (Tabela 1) (Connor & Van Den Bossche, 2004).

Os tripanossomas que têm ciclo de vida digenético, ou seja, que necessitam de dois hospedeiros para completar seu ciclo de vida, passam por vários estágios de desenvolvimento: amastigota, promastigota, epimastigota e tripomastigota (verdadeiro estágio "tripanossoma"), representado por formas alongadas com cinetoplasto pós-nuclear. Nos hospedeiros vertebrados, tripomastigotas e ocasionalmente epimastigotas ocorrem no sangue e nos tecidos corporais, e amastigotas podem ocorrer dentro das células do hospedeiro (*T. cruzi*) (Hoare, 1972). As quatro formas podem ocorrer no hospedeiro invertebrado (vetor) ou em cultura (Barriga, 1997). A morfologia dos tripanossomas pode ser observada através de microscopia de luz e de microscopia eletrônica. Na microscopia de luz, observam-se formas alongadas com núcleo evidente, cinetoplasto, membrana ondulante e um flagelo que corre ao longo do corpo, podendo haver também um flagelo livre (Figura 1). Ultra-estruturalmente, os tripanossomas são compostos por flagelo; corpo basal ou blefaroplasto, local onde se insere o flagelo; núcleo com cromatina; retículo endoplasmático; complexo de Golgi; cinetoplasto; mitocôndria, representada por um longo tubo que vai desde a porção anterior até a posterior; corda paraxial; microtúbulos; ribossomos; e membrana ondulante, constituída por uma série de pregas que são esticadas pelo movimento do flagelo (Figura 2). O cinetoplasto é uma malha de DNA localizada em uma dilatação da mitocôndria. Essa estrutura é envolvida por uma cápsula que recobre um grupo de fibrilas eletro-densas que contém DNA (kDNA) (Figura 3). Na microscopia de luz, o kDNA se cora, não a cápsula. No passado, o cinetoplasto foi denominado erroneamente de nucléolo, micronúcleo, centrossomo e cinetonúcleo, pois se acreditava que se originava do núcleo. Outros nomes implicavam que essa estrutura estivesse conectada à formação do flagelo, blefaroplasto (Hoare, 1972). Blefaroplasto e cinetoplasto têm sido erroneamente citados como sinônimos em alguns livros texto (Jones et al., 2000). Também erroneamente, uma estrutura distinta relacionada com o complexo de Golgi e designada como corpo parabasal, foi associada com o cinetoplasto (Hoare, 1972).

Embora os tripanossomas sejam estruturalmente semelhantes, algumas diferenças observadas na microscopia de luz são usadas para identificação de cada espécie.

*T. evansi* é classificado como monomórfico e é representado por finos tripomastigotas, sendo indistinguível de *T. equiperdum* e das formas intermediária e delgada de *T. brucei*. As formas encontradas na corrente sangüínea são basicamente lancetadas e o corpo é alongado e achatado. Um flagelo livre está sempre presente. Há uma membrana ondulante bem desenvolvida e a extremidade posterior pode ser arredondada ou afilada. Seu tamanho varia de 15-33  $\mu\text{m}$ , com média de 24  $\mu\text{m}$  (Hoare, 1972). As cepas encontradas no Pantanal mato-grossense são um pouco menores e medem entre 17,21  $\mu\text{m}$  e 27,34  $\mu\text{m}$  com uma média de 21,20  $\mu\text{m}$  (Silva et al., 1995a). O cinetoplasto, quando presente, é pequeno (0,6  $\mu\text{m}$ ), tem uma forma de bastonete e geralmente ocupa a porção subterminal ou marginal do corpo. Algumas cepas de *T. evansi* podem não ter um cinetoplasto evidente. Nesses casos, o núcleo é localizado mais próximo da extremidade posterior (Hoare, 1972). Estudos realizados demonstram que em amostras brasileiras de *T. evansi* o DNA cinetoplástico é totalmente ausente, tanto nos isolados de animais domésticos quanto nos animais selvagens; provavelmente, esse seja o estado natural do *T. evansi* brasileiro (Ventura et al., 2000).

*T. vivax* possui um cinetoplasto terminal grande, uma membrana ondulante reduzida, podendo não estar presente nas formas delgada e intermediária, e a extremidade posterior é arredondada (Silva et al., 2002). Seu tamanho varia entre 18-31  $\mu\text{m}$ , com média de 21-25,4  $\mu\text{m}$  (Hoare, 1972). Quando observado através de esfregaços sangüíneos úmidos, é um tripanossoma grande, extremamente ativo e pode percorrer rapidamente o campo microscópico. Por outro lado, *T. congolense* é pequeno, possui movimentação lenta e tende a aderir sua extremidade posterior aos eritrócitos (Connor & Van Den Bossche, 2004). É o menor tripanossoma da seção Salivaria, medindo entre 8-24  $\mu\text{m}$ , com média de 12,2-17,6  $\mu\text{m}$ . O cinetoplasto possui forma arredondada ou alongada e localização subterminal e marginal, com um tamanho médio de 0,7-0,8  $\mu\text{m}$ . É menor que o cinetoplasto de *T. vivax* e maior do que o cinetoplasto dos tripanossomas do subgênero *Trypanozoon*. O flagelo corre ao longo da membrana ondulante e é inconspícuo. A extremidade posterior é arredondada nos tripanossomas de tamanho pequeno e finamente obtusa nos maiores. O núcleo é situado no meio do corpo (Hoare, 1972).

A divisão dos tripanossomas do subgênero *Trypanozoon* ocorre por divisão binária, que é iniciada pela bipartição do cinetoplasto, seguido pelo desenvolvimento de um novo flagelo próximo à porção posterior do cinetoplasto. O novo flagelo cresce gradual e paralelamente ao antigo; ao mesmo tempo, o núcleo divide-se em dois, e finalmente quando

os dois flagelos tiverem o mesmo tamanho, o citoplasma iniciará a divisão começando pela extremidade anterior do corpo (Hoare, 1972).

### 2.1.3 Epidemiologia

A transmissão da tripanossomíase ocorre pela inoculação dos tripanossomas pela saliva dos vetores (seção Salivaria), exceção feita a *T. equiperdum* que é transmitido venereamente, ou pela contaminação da mucosa ou da pele lesionada por tripanossomas presentes no material fecal do vetor, quando esse realiza o repasto (seção Stercoraria) (Connor & Van Den Bossche, 2004). Essa transmissão pode ser cíclica, quando há ciclo biológico no hospedeiro intermediário (vetor biológico), ou acíclica, quando for essencialmente mecânica (vetor mecânico) (Urquhart et al., 1996).

A transmissão cíclica ocorre nos parasitas causadores da “doença do sono” em humanos (*T. brucei rhodesiense* e *T. b. gambiense*) (Gibson, 1998; Radostits et al., 2002b; Schwartz et al., 2006) e de nagana nos animais domésticos (*T. b. brucei*, *T. vivax*, *T. congolense*) (Connor, 1994). Essas tripanossomíases ocorrem na África e são transmitidas por várias espécies de moscas do gênero *Glossina*, conhecidas como moscas “tsé-tsé”. Sua distribuição está relacionada com os habitats da mosca tsé-tsé (Lucas, 1992; Gibson, 1998; Urquhart et al., 1996; Connor & Van Den Bossche, 2004). As moscas tse-tsé ingerem os tripanossomas do sangue, ou da linfa ao fazer o repasto em um hospedeiro infectado. Em seguida, os tripanossomas perdem a camada superficial glicoprotéica e, no caso do *T. brucei* e *T. congolense*, tornam-se alongados e multiplicam-se no intestino médio antes de migrar para as glândulas salivares (*T. brucei*) e para a probóscida (*T. congolense*). Nesse ponto, sofrem uma transformação, perdendo a forma tripanossômica típica, ou tripomastigota, e adquirem uma forma epimastigota. Após a multiplicação dos epimastigotas, transformam-se novamente em pequenas formas tripomastigotas, envoltos por uma camada superficial glicoprotéica. Essas são as formas infectantes para o próximo hospedeiro e são denominadas tripanossomas metacíclicos. O processo todo dura no mínimo duas ou três semanas e os tripanossomas metacíclicos são inoculados no novo hospedeiro quando a mosca tsé-tsé se alimenta. Com o *T. vivax*, ocorre um processo semelhante de desenvolvimento cíclico, exceto se dá inteiramente no interior da probóscida (Urquhart et al., 1996; Radostits et al., 2002b; Connor & Van Den Bossche, 2004).

Alguns tripanossomas originários da África, livraram-se da dependência da transmissão pelas moscas tsé-tsé, e invadiram outras áreas fora do cinturão africano da tsé-tsé (Hoare, 1972). Assim, *T. vivax* estabeleceu-se na América do Sul, provavelmente pela importação de bovinos infectados e, acredita-se que seja mecanicamente transmitido por moscas hematófagas (Urquhart et al., 1996; Radostits et al., 2002b; Connor & Van Den Bossche, 2004).

No caso de *T. evansi*, a transmissão é mecânica e as formas sangüíneas são transferidas diretamente de um mamífero, para outro, por insetos hematófagos (por ex. moscas das famílias Tabanidae e Stomoxyidae) ou artificialmente por agulhas contaminadas com sangue infectado. Em contraste com a transmissão cíclica, que pode ser tão longa quanto for a vida do vetor, a capacidade para transmitir os exemplares de *T. evansi* mecanicamente dura pouco (geralmente questão de minutos) e depende da sobrevivência dos parasitas nas peças bucais do vetor (Silva et al., 2002). Na América do Sul, *T. evansi* pode também ser transmitido por morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*), onde os parasitas podem se multiplicar e sobreviver por um longo período. Dessa maneira, morcegos hematófagos atuam tanto como vetores como reservatórios (Hoare, 1972; Urquhart et al., 1996). Além dos clássicos modos de transmissão, carnívoros podem se infectar através da ingestão de carne de animais recentemente mortos de tripanossomíase (Barriga, 1997; Urquhart et al., 1996; Herrera et al., 2004).

A transmissão natural de *T. equiperdum* ocorre pela deposição do parasita nas membranas mucosas da genitália durante o coito (Barriga, 1997; Luckins et al., 2004). A transmissão pode ocorrer do garanhão para a égua ou vice-versa. Transmissão pela mosca tsé-tsé não ocorre, mas pode acontecer através da transfusão de grandes volumes de sangue de um animal infectado para outro susceptível (Luckins et al., 2004).

Na América do Sul, as espécies que causam tripanossomíases em animais são *T. cruzi*, *T. theileri*, *T. equiperdum*, *T. evansi* e *T. vivax* (Hoare, 1972). Dentre estas, apenas *T. evansi* e *T. vivax* são de importância econômica nessa região, representando um potencial de risco para aproximadamente 300 milhões de cabeças de gado, 1,8 milhões de búfalos, e 16 milhões de cavalos. *T. cruzi* infecta grande número de animais, mas não apresenta importância econômica. *T. theileri* não é, em geral, considerado patogênico. Na Argentina e Guiana, respectivamente, apenas *T. evansi* e *T. vivax* são encontrados, porém no Brasil, Colômbia, Guiana Francesa, Peru, Suriname, e Venezuela, ocorrem ambas as espécies (Dávila & Silva, 2000).



A tripanossomíase causada por *T. evansi* é comumente denominada “surra” (Hoare, 1972), “derrengadera” (Hoare, 1972; Levine, 1973), “mal das cadeiras” (Silva et al., 1995a) ou “peste quebra-bunda”, dependendo do local do mundo onde ocorre. No passado, algumas cepas de *T. evansi* sem cinetoplasto evidente, foram, por algum tempo, consideradas uma espécie diferente e denominadas como *T. hippicum* e *T. equinum* (Levine, 1973). Outras denominações usadas anteriormente para *T. evansi* incluem *Spirochaete evansi*, *Trypanosoma soudanense*, *Trypanosoma venezuelense*, *Trypanosoma soudanense* Var. *berberum*, *Trypanosoma cameli*, *Trypanosoma marocanum*, *Trypanosoma ninae* Kohl yakmov, *Trypanosoma su-auru* (Hoare, 1972). Sabe-se que hoje todas essas denominações referem-se à mesma espécie, *T. evansi*.

*T. evansi* ocorre em eqüinos (Seiler et al., 1981; Quiñones Mateu et al., 1994; Franke et al., 1994; Silva et al., 1995a,b; Dávila et al., 1999; Lemos, 2003), asininos (Cadioli, 2001; Tuntasuvan et al., 2003a), bovinos (Franke et al.; 1994; Tuntasuvan et al., 1997, Tuntasuvan & Luckins, 1998), búfalos (*Bubalus bubalis*) (Sudarto et al., 1990, Damayanti et al., 1994; Tuntasuvan et al., 1997; Tuntasuvan & Luckins, 1998), veados (*Cervus porcinus*) (Tuntasuvan et al., 2000), cães (Franke et al.; 1994; Silva et al., 1995b; Aquino et al., 1999; Colpo et al., 2005), capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) (Franke et al.; 1994), quatis (*Nasua nasua*) (Nunes & Oshiro, 1990; Herrera, 2001), pequenos mamíferos (*Thricomys* sp., *Clyomys* sp., *Myotis* sp., *Noctilio* sp.), marsupiais (*Monodelphis* sp.), tatus (*Euphractus* sp.) (Herrera et al., 2004), suínos (Tuntasuvan & Luckins, 1998; Tuntasuvan et al., 2003b), camelos (Delafosse & Doutoum, 2004) e elefantes (Levine, 1973). Recentemente, o primeiro caso de tripanossomíase por *T. evansi* em seres humanos foi descrito em um homem indiano (Powar et al., 2006).

No Brasil, *T. evansi* afeta principalmente eqüinos e a prevalência varia de uma região para outra (Dávila & Silva, 2000; Herrera et al., 2004). A doença é enzoótica no Pantanal mato-grossense, onde assume grande importância, pois esses animais são amplamente usados para o manejo de bovinos (Silva et al., 1995a; Aquino et al., 1999). Surtos esporádicos acontecem em algumas regiões do Pantanal, podendo ocorrer com morbidade alta em certas sub-regiões e estar ausentes em outras (Dávila et al., 1999). A tripanossomíase no Pantanal afeta eqüinos (Franke et al., 1994; Silva et al., 1995a; Dávila et al., 1999), cães (Silva et al., 1995b; Herrera et al., 2004), capivaras (Nunes & Oshiro, 1990; Herrera et al., 2004), quatis (Nunes & Oshiro, 1990), bovinos, búfalos, pequenos mamíferos, marsupiais e tatus (Herrera et al., 2004). Embora os achados clínicos e laboratoriais indiquem que capivaras são os principais reservatórios de *T. evansi*, bovinos e cães - pelo amplo contato com eqüinos -

devem ser também considerados como reservatórios eficientes (Franke et al., 1994). Segundo relatos de pecuaristas pantaneiros, geralmente, ocorrem surtos de tripanossomíase em capivaras que precedem os surtos da doença em eqüinos (Silva et al., 2002). A alta soroprevalência em eqüinos sugere que esses animais estão mais expostos à infecção por *T. evansi* do que as outras espécies (Herrera et al., 2004).

O *T. b. brucei* está distribuído por grande parte do continente africano e pode acometer várias espécies animais, incluindo eqüinos, bovinos, ovinos, caprinos, caninos e felinos (Losos & Ikede, 1972; Connor & Van Den Bossche, 2004). Bovinos, geralmente são refratários à infecção, embora um pequeno número de animais possa morrer após longos períodos de infecção crônica. Nos bovinos, a infecção geralmente está associada a *T. congolense* e *T. vivax*. As demais espécies são altamente susceptíveis, particularmente eqüinos, e a mortalidade pode chegar a 25%, dos animais infectados (Losos & Ikede, 1972).

As espécies causadoras da “doença do sono” em pessoas estão distribuídas na África oriental, *T. b. rhodesiense*, e na África ocidental e central, *T. b. gambiense* (Lucas, 1992; Gibson, 1998; Aster, 2005b; Schwartz et al., 2006). *T. b. rhodesiense*, provoca uma infecção rapidamente progressiva que pode matar o paciente em 3 a 6 meses (Schwartz et al., 2006). Além disso, pode acometer espécies animais, como bovinos, caprinos, ovinos, eqüinos e caninos. Nos bovinos e eqüinos, a infecção é levemente patogênica. Nos ovinos e caprinos a doença é mais grave, podendo cursar com sinais clínicos neurológicos (Losos & Ikede, 1972; Connor & Van Den Bossche, 2004). *T. b. gambiense* produz uma infecção crônica em pessoas, freqüentemente com curso clínico de um ano (Schwartz et al., 2006). Nos animais a infecção geralmente é assintomática (Losos & Ikede, 1972).

O habitat natural de *T. vivax* é a África tropical, com prevalência na área de distribuição da mosca tsé-tsé. *T. vivax* pode ser também encontrado fora do cinturão da tsé-tse, particularmente no Oeste da Índia, América do Sul e Central e Ilhas Maurício (Hoare, 1972; Silva et al., 1999). Na América do Sul, a doença em bovinos é conhecida como “secadera” e pode cursar com alta morbidade e mortalidade em bovinos, caprinos e ovinos. Em geral, as infecções em eqüinos resultam em uma forma leve e crônica da doença, caracterizada por baixa mortalidade. Caninos e felinos não são susceptíveis (Losos & Ikede, 1972).

A doença causada por *T. congolense* ocorre na África tropical, exclusivamente nos locais onde a mosca tsé-tsé está distribuída (Hoare, 1972). Nos bovinos, ovinos e caprinos a doença é similar, porém em ovinos e caprinos pode ser acompanhada por alta mortalidade. Nos eqüinos, a prevalência é baixa e esporádica. Caninos e felinos são altamente susceptíveis

e desenvolvem uma doença mais grave que os outros animais (Losos & Ikede, 1972; Radostits et al., 2002b).

*T. equiperdum* está distribuído na África, Europa, Ásia, América do Sul e Central. Nos Estados Unidos e Canadá a doença foi praticamente erradicada e raros casos são descritos (Hoare, 1972; Luckins et al., 2004). Na América do Sul, existe pouca informação sobre a epizootiologia e distribuição desse parasita (Dávila et al., 2000). *T. equiperdum* acomete apenas eqüinos, mulas e burros (Hoare, 1972; Luckins et al., 2004). Muitos eqüinos são portadores assintomáticos e podem ser detectados apenas por testes sorológicos. Trata-se de uma doença de natureza insidiosa e pode levar meses antes que os sinais clínicos apareçam, quando já pode ter se espalhado pelo rebanho. A doença ocorre principalmente em rebanhos em que há reprodução indiscriminada entre eqüinos e asininos (Luckins et al., 2004).

#### 2.1.4 Patogênese

A patogenicidade dos tripanossomas no hospedeiro varia de acordo com a cepa do tripanossoma, a espécie do hospedeiro, fatores não específicos afetando o animal como outras infecções e estresse, e condições epizootiológicas locais (Hoare, 1972). Os tripanossomas multiplicam-se no local da picada, na pele, invadem a corrente sangüínea e o sistema linfático, causando ataques febris generalizados e induzindo uma resposta inflamatória (Connor & Van Den Bossche, 2004). A parasitemia aumenta e é acompanhada por respostas febris, que são seguidas por períodos aparasitêmicos e afebris. Os picos de parasitemia ocorrem devido a variações antigênicas na superfície do parasita. Conforme anticorpos são produzidos, há eliminação do clone corrente, mas sucessivos novos padrões de antígenos de superfície são gerados para evadir a resposta do hospedeiro (Lucas et al., 1992).

A patogênese da anemia na tripanossomíase é bastante complexa e envolve uma série de mecanismos ainda não totalmente elucidados (Anosa & Kaneko, 1983; Jenkins & Facer, 1985; Rue et al., 2000; Aquino et al., 2002). Dentre os mecanismos que causam anemia os principais são liberação de hemolisinas e enzimas pelos tripanossomas, que irão induzir lesões diretamente às membranas dos eritrócitos; aumento da fragilidade dos eritrócitos devido ao aumento da temperatura; lesões induzidas pelos antígenos dos tripanossomas que se aderem à superfície dos eritrócitos; adesão dos complexos antígeno-anticorpo às membranas eritrocitárias e dos componentes do complemento aos eritrócitos, que irão promover eritrofagocitose. Desse modo, a principal causa da anemia é a retirada dos eritrócitos

danificados da corrente sanguínea pelas células do sistema fagocítico mononuclear no baço, medula óssea, pulmões e linfonodos. A hemossiderose extensa observada nesses casos e a captura de ferro no citoplasma dos macrófagos irão contribuir para a eritropoiese deficiente (Jenkins & Facer, 1985; Rue et al., 2000; Connor & Van Den Bossche, 2004).

A patogênese das lesões teciduais varia de acordo com a espécie de tripanossoma. *T. congolense* e *T. vivax* são parasitas principalmente intravasculares; induzem alterações no endotélio dos capilares e, dessa forma, causam lesões indiretas aos tecidos adjacentes. As lesões endoteliais ocorrem pelos produtos do parasita, complexos imunes, aminas vasoativas e citocinas que aumentam a permeabilidade vascular, e alteram o equilíbrio hemodinâmico. Microtrombos de fibrina podem se formar em resposta à lesão endotelial. Essas alterações podem ser ainda mais proeminentes na infecção por *T. vivax*, na qual, coagulação intravascular disseminada está comumente associada (Connor & Van Den Bossche, 2004).

Por outro lado *T. evansi* e as subespécies de *T. brucei* têm afinidade pelos tecidos. Nesses casos, a anemia tem papel secundário na infecção, devido às alterações inflamatórias, degenerativas e necróticas resultantes da invasão dos tripanossomas nos espaços extravasculares (Losos & Ikede, 1971). Dessa maneira, os sinais clínicos dependem da distribuição dos parasitas nos tecidos e da gravidade das lesões induzidas nos diferentes órgãos e tecidos. As *T. brucei* ssp. circulantes na corrente sanguínea, podem invadir o sistema nervoso central (SNC) e, dessa forma, evitam mais eficientemente o sistema imune. A invasão do SNC leva a lesão progressiva e, acredita-se, inicia em um estágio muito mais cedo da infecção do que se pensava anteriormente (Gibson, 1998). Os tripanossomas podem induzir lesões na barreira hematoencefálica (BHE), que irão provocar edema e pequenas hemorragias. O edema vasogênico (aumento de água e outros constituintes do plasma no encéfalo causado pela lesão nos elementos vasculares do encéfalo) geralmente ocorre nos estágios finais da infecção (Philip et al., 1994).

Da mesma maneira que os outros membros do complexo *T. brucei*, *T. equiperdum* possui a habilidade de invadir membranas mucosas intactas e vasos linfáticos, mas ainda tem uma predileção pelos tecidos conectivos. A multiplicação ocorre principalmente nos espaços teciduais extracelulares. Eventualmente, o parasita é encontrado nos espaços vasculares e, provavelmente, utiliza esta rota apenas como transporte. Sinais clínicos neurológicos parecem ocorrer com a presença dos tripanossomas no líquido cefalorraquidiano (LCR). Nesses casos, os tripanossomas induzem uma resposta inflamatória nos nervos espinhais, mas com pouco envolvimento do SNC (Radostits et al., 2002b; Luckins et al., 2004).

### 2.1.5 Sinais Clínicos

Os sinais clínicos comumente observados na infecção por *T. evansi* são febre intermitente, urticária, anemia, edema das patas traseiras e das partes baixas do corpo, perda de pêlos, fraqueza progressiva, perda de condição corporal e inapetência (Levine, 1973). Os animais afetados agudamente podem morrer dentro de semanas ou poucos meses, mas infecções crônicas podem durar anos (Brun et al., 1998). Os casos mais graves ocorrem em eqüinos, enquanto casos crônicos são comumente observados em búfalos e bovinos, que podem não apresentar quaisquer sinais clínicos. Por outro lado, fatores de estresse como má nutrição e fasciolose, podem diminuir a resistência desses animais e exacerbar os sinais clínicos de tripanossomíase (Tuntasuvan & Luckins, 1998).

A doença clínica causada por *T. evansi* foi estudada em sete eqüinos inoculados por via subcutânea, e em um eqüino inoculado por insetos hematófagos (Frazer & Simonds, 1909). O primeiro sinal clínico observado foi febre intermitente; nos últimos estágios da doença, a temperatura estava constantemente elevada. Outro sinal clínico observado foi emaciação, não havendo alteração no apetite, mesmo durante os ataques febris. Edema das patas traseiras apareceu dois a dez dias após o início do aumento da temperatura, seguido de edema do escroto, nos machos, e edema das mamas, nas fêmeas. O edema se estendeu, em alguns casos, ao longo do abdômen e tórax. Houve taquicardia e taquipnéia nos períodos febris e nos estágios finais. Dispnéia ocorreu poucos dias antes da morte. As mucosas conjuntivas estavam inicialmente congestionadas, em seguida ficavam amarelas e no final tornavam-se pálidas; petéquias eram observadas. Lacrimejamento e descarga nasal aquosa eram freqüentemente presentes. A progressão da doença era geralmente rápida. A duração dos sinais clínicos variava de acordo com a condição física do animal: aqueles em mau estado corporal, geralmente sucumbiam mais rápido. No animal infectado através de picadas de insetos, o curso foi mais prolongado e a morte ocorreu após 78 dias.

Além dos sinais clínicos descritos anteriormente, outros trabalhos sobre a infecção por *T. evansi* em eqüinos descrevem letargia, depressão, fraqueza progressiva, inapetência, anemia acentuada, conjuntivite, tosse, abortos, aumento dos linfonodos superficiais e edema submandibular (Seiler et al., 1981; Silva et al., 1995b; Tuntasuvan & Luckins, 1998; Marques et al., 2000). Sinais clínicos de distúrbios locomotores também podem ocorrer e caracterizam-se por relutância em se mover, ataxia, fraqueza, paresia e incoordenação dos membros

pélvicos; o eqüino pode assumir posição de cão-sentado (Seiler et al. 1981; Marques et al., 2000).

Nos bovinos, búfalos e veados, os sinais clínicos são semelhantes aos observados em eqüinos (Frazer & Simonds, 1909; Damayanti et al., 1994; Tuntasuvan & Luckins, 1998; Tuntasuvan et al., 2000). Em geral, bovinos e búfalos desenvolvem um curso clínico cuja duração depende da condição do animal. Geralmente o curso é crônico, mas animais em mau estado corporal desenvolvem doença mais aguda, e aqueles em bom estado corporal podem não desenvolver doença clínica (Frazer & Simonds, 1909; Tuntasuvan & Luckins, 1998). Vacas de leite e búfalos podem abortar do meio até o final da gestação, podendo haver também retenção de placenta, febre alta e diminuição na produção de leite (Tuntasuvan & Luckins, 1998).

Em cães descreve-se conjuntivite, febre, membranas mucosas pálidas, emaciação progressiva e aumento dos linfonodos palpáveis. O apetite pode se manter inalterado e a emaciação deve ser relacionada a outras causas (Silva et al., 1995b; Aquino et al., 1999; Herrera et al., 2004; Colpo et al., 2005). Animais silvestres, como capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e quatis (*Nasua nasua*), podem desenvolver uma forma crônica da doença (Nunes et al., 1993; Herrera et al., 2001). Sinais clínicos geralmente não são observados nas capivaras (Franke et al., 1994), mas quando ocorrem se caracterizam por caquexia e andar cambaleante (Nunes et al., 1993). Os quatis desenvolvem emaciação progressiva, aumento dos linfonodos palpáveis e, após vários meses, depressão, letargia e fotofobia moderada (Herrera et al., 2001).

Suínos podem ter inapetência, febre intermitente, petéquias na pele das orelhas, dos tetos, patas e escroto nos machos. Algumas fêmeas abortam e alguns animais podem desenvolver sinais neurológicos, como convulsão e morte (Tuntasuvan & Luckins, 1998).

Vários estudos têm demonstrado que eqüinos (Seiler et al., 1981), búfalos (Sudarto et al., 1990), bovinos e veados (Tuntasuvan et al. 1997; 2000) infectados naturalmente e jumentos infectados experimentalmente (Cadioli, 2001) com *T. evansi* podem desenvolver sinais clínicos de distúrbios neurológicos numa fase final da doença. Esses sinais caracterizam-se por andar em círculos, excitação, saltos, comportamento agressivo, decúbito lateral, incoordenação e paresia dos membros pélvicos, opistótono, convulsão, e finalmente morte. Em alguns bovinos que morreram com sinais clínicos neurológicos os parasitas foram encontrados no LCR (Tuntasuvan & Luckins, 1998).

Na infecção por *T. brucei* ssp., o curso clínico pode ser agudo, com duração de duas a quatro semanas, ou crônico, com duração de muitos meses. Os sinais clínicos em animais são

semelhantes aos descritos anteriormente para a infecção por *T. evansi*. Nos estágios finais, em equinos, sinais clínicos de distúrbios nervosos são também observados, e guardam estreita semelhança ao que foi descrito na tripanossomíase por *T. evansi*. Esses sinais são associados a lesões no SNC (Neitz & McCully, 1971; Losos & Ikede, 1972; Gibson, 1998). Nas pessoas, a infecção cursa com três estágios clínicos: 1) cancro primário, uma reação dérmica no local da picada; 2) infecção linfática e sangüínea, caracterizada por linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, anemia, glomerulonefrite e miocardite, que pode causar a morte antes do desenvolvimento dos sinais neurológicos; 3) invasão cerebral dos tripanossomas, que cursa com alterações de personalidade, cefaléia, sonolência diurna e finalmente estupor e caquexia (Lucas, 1992; Gibson, 1998; Aster 2005b; Schwartz et al., 2006).

Os animais infectados com *T. vivax* podem desenvolver uma forma aguda ou crônica da doença. Na forma aguda, a morte geralmente ocorre dentro de 5 semanas e os sinais clínicos caracterizam-se por febre, letargia, fraqueza, anemia, perda da condição corporal, lacrimejamento, edema subcutâneo ventral, epistaxe e disenteria. Nos casos crônicos, observa-se anemia e emaciação progressiva. Abortos também podem ocorrer (Losos & Ikede, 1972; Silva et al., 1999; Dávila et al., 2000).

A infecção provocada por *T. congolense* pode ter um curso super agudo, agudo ou crônico. Os sinais clínicos geralmente são intermitentes e acompanhados de fases de melhora e são semelhantes aos descritos para a infecção por *T. vivax*. A anemia, nesses casos, tem sido associada à inibição da hematopoese, devido à ausência de eritrócitos imaturos no sangue circulante. Na forma crônica, a parasitemia baixa pode persistir por meses, porém, um número relativamente alto de tripanossomas pode ser encontrado na hora da morte (Losos & Ikede, 1972; Radostits et al., 2002b).

O período de incubação na infecção por *T. equiperdum* pode ser de uma semana até vários meses. A doença ocorre em três formas: assintomática, intersticial ou edematosa e nervosa. Os sinais clínicos iniciais consistem de tumefação, hiperemia, edema e áreas de despigmentação da genitália externa. Num segundo estágio, o parasita dissemina-se pelo sangue e invade a pele causando prurido, placas edematosas com 2-5 cm no flanco, e emaciação progressiva (Levine, 1973; Barriga, 1997; Radostits et al., 2002b; Luckins et al., 2004). Placas na pele são características dessa infecção, embora possam também ocorrer esporadicamente na infecção por *T. evansi* (Brun et al., 1998). Num estágio final, há paralisia dos músculos faciais e do pescoço, que se estende aos membros posteriores e em seguida para o corpo todo (Levine, 1973; Barriga, 1997; Radostits et al., 2002b). A forma nervosa ocorre como uma seqüela da forma intersticial e é invariavelmente fatal (Luckins et al., 2004).

### 2.1.6 Alterações laboratoriais

A principal alteração hematológica identificada em animais com tripanossomíase é anemia acentuada (Connor & Van Den Bossche, 2004). Em geral, no hemograma de eqüinos (Silva et al., 1995a; Marques et al., 2000; Conrado et al., 2005), caninos (Silva et al., 1995b; Rue et al., 2000; Aquino et al., 2002), quatis (Herrera et al., 2002) e búfalos (Damayanti et al., 1994) infectados com *T. evansi*; nos animais com nagana (Neitz & McCully, 1971; Anosa & Kaneko, 1983; Silva et al., 1999; Connor & Van Den Bossche, 2004; Batista et al., 2006) e em animais experimentalmente infectados com *T. b. gambiense* (Emeribe & Anosa, 1991) observa-se marcada diminuição no hematócrito, na concentração de hemoglobina, e no número de eritrócitos totais. Alterações eritrocitárias podem incluir microesferócitos, acantócitos, dacriócitos, micrócitos, vacuolização eritrocitária, figuras bizarras (eventualmente), policromasia, poiquilocitose, adesão eritrocitária dos tripanossomas aos eritrócitos circulantes e eritrofagocitose (Anosa & Kaneko, 1983; Silva et al., 1995b; Conrado et al., 2005). A anemia intensa geralmente é seguida por um pico de parasitemia (Losos & Ikede, 1971; Hoare, 1972; Herrera et al., 2002; Connor & Van Den Bossche, 2004).

As alterações leucocitárias associadas às tripanossomíases não são consistentes. Os valores leucocitários podem estar normais (Neitz & McCully, 1971; Damayanti et al., 1994; Marques et al., 2000; Rue et al., 2000; Herrera et al., 2002), aumentados (Anosa & Kaneko, 1983; Emeribe & Anosa, 1991; Monzon et al., 1991; Damayanti et al., 1994) ou diminuídos (Silva et al., 1995b; 1999; Aquino et al., 2002; Batista et al., 2006). A leucopenia nesses casos é, em geral, em decorrência da diminuição no número de neutrófilos (Silva et al., 1995b; 1999; Marques et al., 2000). A contagem dos linfócitos pode estar aumentada (Neitz & McCully, 1971; Anosa & Kaneko, 1983; Emeribe & Anosa, 1991; Monzon et al., 1991; Damayanti et al., 1994; Silva et al., 1995; Batista et al., 2006) ou diminuída (Marques et al., 2000). Linfócitos atípicos podem também ser encontrados em animais experimentalmente infectados com *T. b. gambiense* (Emeribe & Anosa, 1991). Em geral, não há alterações significativas na contagem de monócitos, eosinófilos e basófilos (Damayanti et al., 1994; Rue et al., 2000; Aquino et al., 2002).

A proteína plasmática total nos animais infectados geralmente encontra-se dentro dos valores normais para cada espécie (Jaktar et al., 1973; Marques et al., 2000) ou acima desses valores em decorrência da elevação das globulinas séricas (Boyd et al., 1980; Damayanti et al.,



1994; Cadioli, 2001; Aquino et al., 2002; Herrera et al.; 2002). Em geral, a hiperglobulinemia ocorre devido ao aumento das  $\gamma$ -globulinas, pela atividade de plasmócitos produzindo diversas imunoglobulinas, em resposta a estimulação antigênica crônica. De modo geral, ocorre queda concomitante na síntese da albumina (Jaktar et al., 1973; Boid et al., 1980; Johnston & Morris, 1993).

#### 2.1.7 Achados de necropsia e histopatologia

Não se observam lesões características na necropsia. As lesões observadas na infecção por *T. evansi* incluem palidez das mucosas, emaciação, atrofia serosa da gordura, esplenomegalia com hiperplasia da polpa branca, linfadenomegalia, hepatomegalia, hidropericárdio, congestão e hemorragia pulmonar, além de hemorragias petequiais em vários órgãos em eqüinos (Frazer & Simonds, 1909; Levine, 1973; Seiler et al., 1981; Damayanti et al., 1994), asininos (Cadioli, 2001), veados (Tuntasuvan et al., 2000), caprinos (Dargantes et al., 2005), caninos (Aquino et al., 2002) e quatis (Herrera et al., 2001; 2002). Além dessas lesões observadas, caprinos podem apresentar edema escrotal (Dargantes et al., 2005); búfalos, hiperplasia da medula óssea dos ossos longos (Damayanti et al., 1994) e caninos, áreas pálidas e hemorragias no coração (Aquino et al., 2002). Nos eqüinos e veados com sinais clínicos neurológicos, congestão e petéquias multifocais podem ser encontradas nas meninges do cerebelo e tronco encefálico (Seiler et al., 1981; Tuntasuvan et al., 2000).

As alterações histológicas nos animais infectados com *T. evansi* caracterizam-se por infiltrado inflamatório mononuclear intersticial em múltiplos órgãos (Seiler et al., 1981; Sudarto et al., 1990; Damayanti et al., 1994; Tuntasuvan et al., 2000; Cadioli, 2001; Aquino et al., 2002; Herrera et al., 2002; Dargantes et al., 2005). Nos linfonodos e baço, observa-se hiperplasia linfóide, congestão e edema (Seiler et al., 1981; Cadioli, 2001; Aquino et al., 2002; Herrera et al., 2002; Dargantes et al., 2005) e necrose multifocal da polpa vermelha do baço (Damayanti et al., 1994). No fígado, infiltrado mononuclear periportal e degeneração gordurosa centrolobular são os achados mais comuns (Seiler et al., 1981; Aquino et al., 2002; Herrera et al., 2002; Dargantes et al., 2005). As alterações cardíacas incluem miocardite não-supurativa subepicárdica e subendocárdica e hemorragias multifocais (Seiler et al., 1981; Damayanti et al., 1994; Tuntasuvan et al., 2000; Aquino et al., 2002; Herrera et al., 2002; Dargantes et al., 2005). Em vários podem ocorrer edema pulmonar e pneumonia intersticial mononuclear (Damayanti et al., 1994; Tuntasuvan et al., 2000; Herrera et al., 2002; Dargantes

et al., 2005). Nos rins, pode ocorrer glomerulite (Dargantes et al., 2005), nefrose tubular (Damayanti et al., 1994; Tuntasuvan et al., 2000) ou nefrite intersticial (Damayanti et al., 1994; Cadioli, 2001; Herrera et al., 2002). Embora eritrofagocitose seja observada ocasionalmente, grande número de macrófagos contendo hemossiderina ocorrem no baço, linfonodos, fígado e pulmão (Seiler et al., 1981; Damayanti et al., 1994; Cadioli, 2001; Aquino et al., 2002; Dargantes et al., 2005). Alterações histológicas encontradas eventualmente incluem hiperplasia da medula óssea (Damayanti et al., 1994; Dargantes et al., 2005); edema, degeneração e infiltrado mononuclear testicular e edema e dermatite mononuclear no local da inoculação dos parasitas (Dargantes et al., 2005).

Equinos podem desenvolver lesões musculares inflamatórias. Histologicamente, essas lesões caracterizam-se por áreas hemorrágicas, infiltrado inflamatório de células mononucleares e alterações no tamanho e na forma das fibras. Possivelmente, essas lesões sejam causadas por um mecanismo indireto que induz auto-imunidade, já que *T. evansi* não invade os músculos (Quiñones Mateu et al., 1994). Em búfalos (Damayanti et al., 1994) e cabras (Dargantes et al., 2005), uma miosite semelhante à descrita em equinos pode ser observada, porém, sugere-se que o mecanismo para essa alteração seja em decorrência da multiplicação do parasita nesses locais (Damayanti et al., 1994), como descrito na infecção por *T. brucei* em ovelhas e coelhos (Losos & Ikede, 1972).

No encéfalo de equinos, pode-se observar graus variáveis de meningoencefalite não-supurativa generalizada afetando a substância branca e cinzenta de todos os níveis do encéfalo. Tipicamente, numerosos infiltrados de células inflamatórias mononucleares perivascularares, principalmente linfócitos, histiócitos e alguns plasmócitos são encontrados. Gliose, muitas vezes acentuada, pode acompanhar os infiltrados de células. Algumas células com núcleo excêntrico e com numerosos glóbulos citoplasmáticos eosinofílicos (corpúsculos de Russell), que dão a célula um aspecto de mórula, são encontradas aleatoriamente entre o infiltrado celular (Seiler et al., 1981). Essas células são denominadas células de Mott e foram observadas já nas primeiras descrições histológicas da tripanossomíase africana em pessoas (Poltera et al., 1977). Na medula espinhal, infiltrados perivascularares e meningite podem ocorrer ocasionalmente. Por vezes, ganglionite não-supurativa difusa leve pode ser observada no gânglio de Gasser. Necrose neuronal não é uma característica observada nesses casos, embora degeneração axonal possa ocorrer nas áreas com acentuada inflamação (Seiler et al., 1981). Lesões semelhantes são relatadas no encéfalo de veados (Tuntasuvan et al., 2000) e asininos (Cadioli, 2001) experimentalmente infectados. No encéfalo de quatis (Herrera et al., 2002), cães (Aquino et al., 2002), búfalos (Damayanti et al., 1994) e cabras (Dargantes et al.,

2005) pequenos manguitos perivasculares, gliose e meningite de grau leve podem ser encontrados. Em geral, esses tripanossomas são raramente observados nos tecidos corados com hematoxilina e eosina (Damayanti et al., 1994; Dargantes et al., 2005), mas podem ser facilmente identificados em amostras de tecido através da técnica de imunoistoquímica (IHQ), como observado no espaço perivascular e na neurópila do encéfalo de búfalos e veados (Sudarto et al., 1990; Tuntasuvan et al., 2000). Além disso, em esfregaços de cérebro e de outros órgãos, corados com Giemsa, observam-se exemplares de *T. evansi* (Tuntasuvan et al., 1997).

Na necropsia dos animais infectados com *T. b. brucei* observa-se emaciação, edema, aumento nos fluídos peritoniais e pericárdicos, esplenomegalia, linfadenomegalia, hemorragias epicárdicas e endocárdicas, conjuntivite, ceratite e atrofia muscular. Tripanossomas podem ser encontrados no LCR, humor vítreo (câmara vítrea) e humor aquoso (câmara anterior) de animais com lesões oculares. Na histopatologia, os microorganismos podem ser observados no tecido conjuntivo do estroma cardíaco, músculos esqueléticos, pele, tecido subcutâneo, encéfalo, olho, pituitária, testículos e epidídimo. Nesses órgãos a presença dos tripanossomas é acompanhada de infiltrado inflamatório mononuclear. Hiperplasia generalizada dos tecidos linfóides é um achado frequentemente observado. A lesão mais importante é encontrada no encéfalo, e consiste de meningoencefalite difusa caracterizada por grande número de linfócitos, plasmócitos e pelas típicas células de Mott (McCully & Neitz, 1971; Losos & Ikede, 1972; Moulton, 1986; Connor & Van Den Boosche, 2004). Nos eqüinos experimentalmente infectados, a presença de células de Mott é um achado constante, muito mais freqüente do que é observado em pessoas com tripanossomíase (McCully & Neitz, 1971). Outras alterações como gliose subpial, desmielinização dos tratos ópticos, perda neuronal e infiltrado inflamatório no gânglio de Gasser e na pituitária também são relatadas. Além dos tecidos anteriormente citados, tripanossomas podem ser observados no plexo coróide (Moulton, 1986), neurópila e meninges (Losos & Ikede, 1972). Caninos e caprinos também podem desenvolver uma meningoencefalite semelhante aos eqüinos (Losos & Ikede, 1972).

Em seres humanos, a doença cursa com uma meningoencefalite avassaladora e fatal se não for tratada. Macroscopicamente pode haver hiperemia e espessamento das meninges do SNC, além de infartos cerebrais e edema (Poltera et al. 1977). Histologicamente, pode-se observar infiltrado inflamatório perivascular linfoistioplasmocitário, localizado principalmente na substância branca. Graus variáveis de gliose também podem ser encontrados. Nas meninges o infiltrado inflamatório é semelhante ao observado na substância

branca. Células de Mott são encontradas na substância branca, próximas aos vasos sangüíneos e associadas com o infiltrado inflamatório ou ocasionalmente isoladas no parênquima (Poltera et al., 1977; Lucas, 1992; Gibson, 1998; Lonsdale-Eccles & Grab, 2002; Schwartz et al., 2006). Edema, desmielinização e gliose podem ocorrer de forma disseminada tanto na substância branca quanto na substância cinzenta, mas necrose neuronal é um achado incomum (Lucas, 1992). Pequenos focos hemorrágicos anelares podem ocorrer na substância branca. Depósitos de ferro podem ser encontrados dentro ou ao redor dos vasos sangüíneos (Poltera et al., 1977). Acredita-se que esses depósitos de ferro resultem da hemólise induzida por imunocomplexos ou de uma vasculite induzida por imunocomplexos com destruição local (Woodruff, 1973). Em poucos casos, a raiz dos nervos craniais e o plexo coróide apresentam infiltrado inflamatório perivascular mononuclear (Poltera et al., 1977). Tripanossomas podem ser observados nos espaços perivasculares, associados a aumento na permeabilidade capilar (Goodwin, 1970).

Nos animais que morrem agudamente da infecção por *T. vivax*, observam-se extensas hemorragias na cavidade oral, laringe, faringe, abomaso, intestino delgado e grosso, ceco, pleura, peritônio parietal, músculos esqueléticos, coração, linfonodos e tecido adiposo. Icterícia tem sido observada. Os linfonodos podem estar aumentados de tamanho, e pode haver edema das superfícies serosas. Na forma crônica, anemia, emaciação e geralmente caquexia acentuada podem estar presentes. Na necropsia de eqüinos, esplenomegalia e hemorragias generalizadas nos linfonodos podem ser encontradas. Histologicamente, poucas lesões teciduais são observadas na infecção por *T. vivax*, diferentemente do que ocorre na infecção causada por *T. brucei*, que cursa com extensas lesões em vários órgãos. No coração, pode haver degeneração gordurosa, fragmentação e necrose de fibras, além de hemorragia e infiltrado inflamatório mononuclear. Tripanossomas não são encontrados fora dos vasos sangüíneos (Losos & Ikede, 1972; Connor & Van Den Boosche, 2004). Recentemente, lesões no encéfalo, semelhantes às observadas na infecção por *T. evansi* e *T. brucei*, foram descritas em bovinos da região nordeste do Brasil infectados por *T. vivax* (Riet-Correa et al., 2003).

Na necropsia de animais acometidos por *T. congolense*, observam-se esplenomegalia e petéquias e equimoses nos linfonodos e nas superfícies serosas, em decorrência da lesão endotelial. Microscopicamente, há hiperplasia no tecido mielóide e acúmulo de linfócitos perivasculares. Devido à lesão no endotélio vascular, trombose pode ser observada. Hemorragia, eritrofagocitose e hemossiderose podem ocorrer nos capilares do encéfalo em decorrência da agregação dos tripanossomas nos vasos sangüíneos. Polioencefalomalácia

focal é uma alteração que também pode ser observada (Losos & Ikede, 1972; Connor & Van Den Boosche, 2004).

Nos animais que morrem devido à infecção por *T. equiperdum*, há emaciação, palidez das mucosas e edema do períneo e órgãos genitais. Nos casos crônicos, além do edema, há fibrose do escroto, prepúcio e túnica vaginal. Nas fêmeas, metrite e cistite podem ocorrer. Os linfonodos podem estar pálidos, edematosos e aumentados de tamanho. Nos animais com sinais clínicos nervosos, os grandes nervos periféricos podem estar edematosos. Microscopicamente, infiltrado inflamatório mononuclear pode ser observado infiltrando a raiz dos nervos espinhais ventrais e dorsais, os gânglios e as meninges da região lombar e sacral. Nos linfonodos, há hiperplasia linfóide, proliferação reticuloendotelial e fibrose nos casos crônicos (Radostits et al., 2002b; Luckins et al., 2004).

#### 2.1.8 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico das tripanossomíases pode ser realizado através de diferentes métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares (Brun et al., 1998; Silva et al., 2002; Connor & Van Den Bossche, 2004).

Os métodos diagnósticos parasitológicos mais frequentemente utilizados são os esfregaços corados pelo Giemsa (ECG), esfregaços sangüíneos úmidos (ESU), método de concentração de Strout (MCS), método do micro-hematócrito ou método de Woo (HCT), método da capa flogística (MCF) e inoculação em camundongos (Silva et al., 1999). Estudos realizados com *T. evansi* demonstraram que as sensibilidades dos vários métodos são as seguintes: o método da inoculação em camundongo, 88.2%; HCT, 71.1%; MCF, 63.4%; ESU, 53.8%; MCS, 46.1% e ECG 45.6%. Para uma combinação mais efetiva propõe-se uma combinação dos métodos HCT, inoculação em camundongo e esfregaço corado com Giemsa para a realização do diagnóstico (Monzón et al., 1990). Para a avaliação de um grande número de animais, o ESU, é o mais indicado, pois é um método simples, barato e que oferece resultados imediatos, embora a sensibilidade não seja muito elevada. Essa sensibilidade pode ser aumentada significativamente pelo uso de um potente agente hemolítico, como o sulfato dodecil de sódio (SDS). O HCT e o MCF podem também ser utilizados eficientemente em um grande número de animais, embora nesses casos seja necessário o uso de equipamentos especializados (Connor & Van Den Bossche, 2004).

Os métodos de diagnóstico sorológicos mais comumente utilizados são: imunofluorescência indireta, teste de aglutinação direta, teste de aglutinação indireta, ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) para detecção de antígenos circulantes (Ag-ELISA) ou para detecção de anticorpos circulantes (Ab-ELISA), teste de aglutinação em cartão para detecção do parasita (CATT) e teste de tripanólise (Olaho-Mukani et al., 1993; Silva et al., 2002). A técnica de ELISA é bastante utilizada em levantamentos epidemiológicos para determinar a distribuição das tripanossomíases em regiões endêmicas. Seu uso para o diagnóstico é limitado, pois não diferencia infecções correntes de infecções que tenham sido tratadas (Connor & Van Den Bossche, 2004). Além disso, demonstrou sensibilidade variável em eqüinos e mulas experimentalmente infectados (Tuntasuvan et al., 2003a). Para o diagnóstico dos animais infectados, dá-se preferência ao uso do Ag-ELISA isoladamente, ou em associação com o MCF (Olaho-Mukani et al., 1993).

Para o diagnóstico molecular a técnica de escolha é a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Silva et al., 2002). Essa técnica tem sido muito utilizada, por ser sensível e específica, o que permite detectar animais infectados com baixa parasitemia (Herrera et al., 2004). Em camelos infectados com *T. evansi*, a PCR, demonstrou ser duas vezes mais eficaz que a técnica de Ag-ELISA e quatro vezes mais eficaz que técnica do ESU (Singh et al., 2004). No entanto, animais submetidos à quimioterapia podem apresentar falsos negativos para PCR (Aquino et al., 1999). Embora essa técnica seja bastante específica e sensível, são necessários equipamentos especializados e pessoal altamente treinado, não sendo possível seu uso em muito laboratórios e, além disso, seu custo torna-se inviável para a rotina na investigação veterinária (Connor & Van Den Bossche, 2004).

O diagnóstico da tripanossomíase em pessoas é realizado através do achado do parasita no sangue, aspirados de linfonodos e LCR. Os critérios que indicam se houve invasão cerebral são: 1) tripanossomas no LCR; 2) contagem de leucócitos no LCR maior que  $5/\text{mm}^3$ ; 3) proteína no LCR maior que 25mg%; 4) presença de anticorpos IgM no LCR (Lucas, 1992).

Para o diagnóstico da infecção por *T. equiperdum* usam-se os mesmos métodos descritos anteriormente, embora, desde que esse parasita é raramente encontrado no sangue do hospedeiro, os métodos indiretos podem ter um potencial maior para obter indicações da infecção (Brun et al., 1998; Luckins et al., 2004). Além disso, fluídos edematosos das áreas de edema subcutâneo dos órgãos genitais devem ser cuidadosamente examinados para a presença dos tripanossomas (Brun et al., 1998), embora o parasita seja infreqüentemente encontrado nesses locais (Barriga, 1997).

### 2.1.9 Tratamento e controle

O sucesso na implementação de um tratamento para as tripanossomíases requer mais do que uma droga tripanocida aplicada corretamente; o tempo de recuperação dos animais tratados vai depender do estado nutricional e da quantidade de exercício que os animais terão que fazer durante a fase de convalescença e a duração da doença. Animais bem alimentados e bem cuidados geralmente se recuperam mais rápido do que aqueles que têm de percorrer longas distâncias para buscar alimentos e água. Infecções crônicas geralmente falham em responder ao tratamento. Nesses casos, os distúrbios no metabolismo do ferro e a disemopoiese parecem ser irreversíveis e os animais afetados podem tornar-se magros e anêmicos apesar do tratamento tripanocida (Connor & Van Den Bossche, 2004).

O tratamento das tripanossomíases pode ser curativo, usando uma droga que dá pouca ou nenhuma ação residual, ou preventivo. A diferença entre cura e prevenção vai depender da droga que está sendo usada e, em alguns casos, da dosagem que está sendo administrada (Peregrine, 1994). As drogas curativas são usadas quando a incidência é baixa e poucos casos ocorrem em um rebanho. A profilaxia ou prevenção é necessária quando os animais estão sob constante risco e quando a enfermidade ocorre em um alto nível durante o ano (Silva et al., 2002).

O tratamento das tripanossomíases é baseado nas drogas suramine, diminazene, quinapiramina, melarsoprol, homidium e isometamidium. A escolha da droga, as doses, e a rota de aplicação dependem da espécie animal, do manejo a ser empregado e da quimiosensibilidade da cepa de tripanossoma. Resistência a essas drogas ocorre freqüentemente, e pode restringir seu uso (Brun et al., 1998). Na América do Sul, nem todos os compostos tripanocidas estão disponíveis comercialmente. No Brasil e Argentina, por ex., apenas o aceturato de diminazene é comercializado (Dávila et al., 2000).

O aceturato de diminazene é o medicamento mais usado nas tripanossomíases dos animais domésticos, pois apresenta o mais alto índice terapêutico em relação às outras drogas para a maioria das espécies domésticas. Atua contra tripanossomas que são resistentes a outros tripanocidas usados em bovinos e apresenta uma baixa incidência de resistência (Peregrine, 1994). Embora, estudos realizados com o uso desse medicamento na dose de 3,5 mg/Kg em equinos e mulas experimentalmente infectados com *T. evansi*, demonstrou ser eficaz na primeira aplicação realizada, já que retirou os parasitas do sangue periférico; porém, no segundo tratamento, 50% dos equinos e 25 % das mulas continuaram positivos. Além

disso, esse medicamento demonstrou toxicidade leve ou acentuada nos eqüinos e mulas após a administração (Tuntasuvan et al., 2003a). Atualmente, a dosagem recomendada para o aceturato de diminazene nos eqüinos infectados com *T. evansi* (Silva et al., 2004) e nos animais infectados com *T. brucei* (Connor & Van Den Bossche, 2004) é de 7,0 mg/kg. Para o *T. congolense* e *T. vivax* recomenda-se uma dosagem de 3,5 mg/kg via intramuscular (Silva et al., 2004). O uso desse medicamento em caninos não deve ultrapassar a dose de 3,5mg/Kg, e seu uso deve ser evitado nas infecções por *T. brucei* nessa espécie (Connor & Van Den Bossche, 2004).

Após o tratamento com drogas, o reaparecimento dos tripanossomas na corrente circulatória pode ser atribuído à sobrevivência dos parasitas resistentes às drogas tripanocidas, ou ser o resultado do escape do parasita da ação dessas drogas, possivelmente quando os microorganismos se ocultam no LCR e reinvadem a circulação sanguínea (Monzon et al., 2003), já que esses medicamentos tripanocidas, com exceção do melarsoprol, não ultrapassam a BHE (Jennings & Gray, 1983; Lucas, 1992; Dumas & Bouteille, 1996; Kennedy et al., 1997; Gibson, 1998).

Para as pessoas, o tratamento vai depender da manifestação clínica. Nos casos, em que não há envolvimento do SNC, os pacientes são tratados com pentamidina e suramine. Porém, nos casos onde o paciente apresenta sinais clínicos de distúrbios neurológicos, associado à presença do parasita no LCR e com o aumento no número de células inflamatórias, a opção de escolha é o melarsoprol (Lucas, 1992; Dumas & Bouteille, 1996). Infelizmente, essa droga é tóxica em 5% dos pacientes tratados e pode levar a encefalopatia ao arsênico, que geralmente é fatal (Lucas, 1992; Pepin et al, 1995; Dumas & Bouteille, 1996).

As tripanossomíases podem ser controladas com o uso de agentes quimioterápicos ou quimioprolifáticos e com o controle dos artrópodes vetores (Peregrine, 1994). Atualmente a quimioprolifaxia e o controle dos vetores com drogas *pour on* e armadilhas impregnadas com inseticidas são os métodos mais utilizados (Silva et al., 2002).

Para o controle das tripanossomíases em eqüinos na região do Pantanal mato-grossense, várias estratégias são sugeridas. Elas incluem tratamentos curativos anuais, tratamentos curativos nas estações úmidas (novembro a abril) e uma estratégia de tratamento preventivo, sendo que essa última estratégia seria a mais adequada para a região, pois evitaria a morte de mais de 6.000 eqüinos por ano. O controle dessa enfermidade na região depende não só do uso de medicamentos, mas também do controle da movimentação dos animais, já que o fator principal para a disseminação do *T. vivax* entre os rebanhos, é a movimentação dos



animais domésticos, ao invés da movimentação do vetor ou de reservatórios silvestres (Dávila et al., 2000).

Tabela 1 – Nome comum, transmissão e patogenicidade das *Trypanosoma* spp. pertencentes à seção Salivaria.

Subgênero	<i>Trypanozoon</i>					<i>Duttonella</i>	<i>Nannomonas</i>
Espécies e subespécies	<i>T. evansi</i>	<i>T. brucei gambiense</i>	<i>T. brucei rhodesiense</i>	<i>T. brucei brucei</i>	<i>T. equiperdum</i>	<i>T. vivax</i>	<i>T. congolense</i>
Nome comum da doença	Surra/mal das cadeiras/ murrina	Doença do sono	Doença do sono	Nagana	Durina	Souma (camelos), secadera (bovinos)	Nagana
Vetores	Tabanídeos e stomoxídeos	Tse-Tsé	Tse-Tsé	Tse-tsé	Nenhum (transmissão venérea)	Tsé-tsé ou outros insetos	Tsé-tsé
<b>Espécies animais afetadas</b>							
Equínos	+++	-	+	+++	+++	++	++
Mulas	++	-	+	++	++	+	++
Bovinos	++	-	+	+	-	+++	+++
Ovinos	+	+	+++	++	-	++	++
Caprinos	+	-	+++	++	-	++	++
Suínos	++	-	+	+	-	-	+
Caninos	+++	+++	+++	+++	-	-	+++
Felinos	++	+++	+++	+++	-	-	+++

Adaptado de Connor &amp; Van Den Boosche (2004).

Figura 1 – Estrutura dos tripanossomas observada na microscopia de luz (segundo Hoare, 1972).

Figura 2 – Ultra-estrutura esquemática dos tripanossomas. Abreviaturas usadas: **b**, corpo basal; **e**, endossomo; **er**, retículo endoplasmático; **fl**, flagelo; **fp**, bolsa flagelar; **g**, complexo de Golgi; **kn**, cinetoplasto; **m**, mitocôndria; **mc**, crista mitocondrial; **n**, núcleo; **pc**, corda paraxial; **pm**, microtúbulos peliculares; **ri**, ribossomas; **um**, membrana ondulante (segundo Hoare, 1972).

Figura 3 – Ultra-estrutura esquemática do cinetoplasto. **A.** Aspecto tridimensional do cinetoplasto. **B.** organização das fibrilas de DNA no cinetoplasto. **C.** Aspecto do cinetoplasto no interior da mitocôndria. **D.** *T. vivax* (tripomastigota sangüíneo). **E.** *T. congolense* (tripomastigota sangüíneo). **F.** *T. brucei* (tripomastigota no intestino da mosca tsé-tsé). **G.** *T. brucei*, *T. evansi*, *T. equiperdum* (tripomastigota sangüíneo). **H.** Forma discinetoplástica do *T. evansi* (segundo Hoare, 1972).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os casos de tripanossomíase em eqüinos ocorreram entre janeiro de 2003 e fevereiro de 2006 em quatro estabelecimentos de criação de cavalo crioulo no Rio Grande do Sul (Propriedades A-D). As Propriedades A, C e D são localizadas no município de Alegrete e a Propriedade B é localizada em São Sepé. Os dados epidemiológicos foram obtidos durante três visitas à Propriedade A e através de informações fornecidas pelos proprietários e veterinários das outras três propriedades. Vinte e três eqüinos foram avaliados clinicamente (Tabela 2). Hemogramas foram realizados em 18 desses 23 eqüinos. Os esfregaços de sangue foram corados por panótico rápido para pesquisa de hemoparasitas. O proteinograma sérico foi determinado em 5 eqüinos através de eletroforese e em 19 eqüinos a determinação da proteína plasmática total (PPT) foi realizada através de refratometria. A avaliação sorológica para detecção de anticorpos para *Trypanosoma evansi* foi realizada em 70 eqüinos, através de ensaio imunoenzimático indireto (ELISA), conforme técnica anteriormente descrita (Aquino et al., 1999)<sup>1</sup>. Seis desses eqüinos (Eqüinos 16, 18, 20, 21, 22 e 23) estavam doentes e fazem parte dos 23 examinados clinicamente; os outros eqüinos foram escolhidos aleatoriamente na propriedade A e não apresentavam sinais clínicos.

Dos 23 eqüinos avaliados clinicamente, 21 morreram e 15 foram necropsiados. Vários fragmentos de órgãos foram colhidos na necropsia (Tabela 3), fixados em formol a 10%, processados rotineiramente para histologia e corados pela hematoxilina e eosina (HE). Adicionalmente, fragmentos de baço, fígado, linfonodos e encéfalo foram corados pelo Azul da Prússia para determinação de hemossiderina. O encéfalo e medula espinhal dos eqüinos necropsiados foi coletado e fixado inteiro em formol a 10%. Após a fixação, os seguintes fragmentos do encéfalo foram selecionados para exame histológico: (1) bulbo na altura do óbex, (2) ponte com pedúnculos cerebelares, (3) mesencéfalo na altura dos colículos rostrais, (4) tálamo, (5) cerebelo, (6) córtex occipital, (7) córtex parietal, (8) córtex frontal, (9) hipocampo, (10) núcleos basais (Figuras 4 e 5), (11) medula espinhal cervical (Eqüinos 8, 14, 16-18, 22 e 23), (12) medula espinhal torácica (Eqüinos 7, 16-18 e 22) e (13) medula espinhal lombar (Eqüinos 7, 16, 17 e 22). Adicionalmente, foram examinados em monobloco

---

<sup>1</sup>Testes sorológicos realizados pela Profa. Dra. Rosângela Zacarias Machado, Departamento de Patologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Av. Carlos Tonnaní s/nº, Km 05, 14870-000 Jaboticabal, SP, Brasil; e pelo Imunodot Indústria e Pesquisa de Produtos para Diagnóstico Animal Ltda., Rua dos Técnicos s/nº, Campus da USP, 14040-900 Ribeirão Preto, SP, Brasil.

o gânglio de Gasser e a hipófise. Esses fragmentos foram processados rotineiramente para histologia e corados pela hematoxilina e eosina (HE). O infiltrado inflamatório observado nas seções de encéfalo examinadas foi classificado quanto à intensidade (1, discreto; 2, moderado; 3, acentuado). Os seguintes aspectos também foram graduados de forma idêntica: 1) presença de plasmócitos com grânulos eosinofílicos no citoplasma (células de Mott); 2) gliose focal; 3) gliose difusa; 4) tumefação das células endoteliais; 5) presença de hemossiderina no citoplasma de macrófagos; 6) edema da neurópila; 7) hemorragia; 8) meningite; 9) malacia; 10) presença de esferóides axonais; 11) presença de astrócitos de Alzheimer tipo II. Cada um dos parâmetros avaliados foi relacionado ao sítio anatômico examinado, com o objetivo de determinar a localização das alterações produzidas pela doença no sistema nervoso central (SNC).

Coloração pela técnica imunoistoquímica (IHQ) utilizando o método de estreptoavidina-biotina para antígeno de *T. evansi* foi realizada em fragmentos fixados do encéfalo dos Eqüinos 7, 8, 11, 14, 16-19, 22 e 23 conforme técnica descrita anteriormente (Sudarto et al., 1990)<sup>2</sup>. O anticorpo primário consistia de um anti-soro produzido em coelhos utilizado na diluição 1:500 até 1:2000. O substrato usado para a peroxidase foi a diaminobenzidina que confere uma coloração marrom-chocolate ao antígeno.

---

<sup>2</sup>Testes imunoistoquímicos realizados no Prairie Diagnostic Service, Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, 25 Campus Drive, Saskatoon, SK S7N 5B4, Canadá.

Tabela 2 - Dados de 23 eqüinos estudados nos surtos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi*.

Identificação	Propriedade	Sexo	Duração dos sinais clínicos	<i>T. evansi</i> no esfregaço sanguíneo	Sorologia para <i>T. evansi</i>	Tratamento	Morte espontânea (E) ou eutanásia (S)	Protocolo de Necropsia
1	B	F <sup>a</sup>	3 meses	NR <sup>b</sup>	NR	NI <sup>c</sup>	E	NR
2	B	F	7 meses	-	NR	NR	S	Vn250-03
3	B	F	7 meses	+	NR	NR	E	NR
4	A	F	2 meses	-	NR	NR	E	LRD3889-1
5	A	M <sup>d</sup>	1 mês	-	NR	NR	E	LRD3889-2
6	A	F	1 mês	-	NR	NR	E	LRD3889-3
7	C	M	1 mês (2 dias) <sup>e</sup>	-	NR	NI <sup>d</sup>	E	Vn256-03
8	B	F	8 meses (4 dias) <sup>e</sup>	+	NR	Diclazuril	E	Vn283-03
9	C	F	1 mês	+	NR	NR	E	LRD4046
10 <sup>f</sup>	C	M	24 meses	-	NR	NR	-	-
11	B	F	5 dias <sup>g</sup>	-	NR	NR	E	Vn383-03
12	A	M	1 mês	NR	NR	NR	E	NR
13	B	F	6 meses	+	NR	NR	E	NR
14	A	F	5 dias <sup>g</sup>	-	NR	Cloridrato de diamidina	E	LRD4358
15	A	M	22 meses	-	NR	NR	-	NR
16	A	F	12 meses (4 dias) <sup>e</sup>	-	+	Diclazuril + Aceturato de diminazene	S	Vn163-04
17	A	F	8 meses (5 dias) <sup>e</sup>	-	NR	Aceturato de diminazene	E	Vn263-04
18	A	M	1 mês (3 dias) <sup>e</sup>	-	+	Aceturato de diminazene	S	Vn327-04
19	A	F	1 mês (4 dias) <sup>e</sup>	NR	NR	Aceturato de diminazene	E	V908-04
20	A	F	7 dias <sup>g</sup>	-	+	Aceturato de diminazene	E	NR
21 <sup>f</sup>	A	M	12 meses	-	+	Aceturato de diminazene	-	-
22	D	M	14 meses (20 dias)	-	+	Diclazuril + Aceturato de diminazene	S	Vn330-05
23	A	F	20 meses (15 dias) <sup>e</sup>	-	-	Aceturato de diminazene	S	V216-06

<sup>a</sup>Fêmea, <sup>b</sup>não realizado, <sup>c</sup>não informado, <sup>d</sup>macho, <sup>e</sup>animais que desenvolveram sinais neurológicos centrais após uma doença crônica (os números fora do parêntese indicam a evolução da doença caquetizante, os números entre parênteses indicam a evolução da doença neurológica central); <sup>f</sup>eqüinos que sobreviveram, <sup>g</sup>eqüinos que desenvolveram somente a doença neurológica central.

Tabela 3 - Órgãos coletados dos eqüinos necropsiados com sinais clínicos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi*.

Órgão	Identificação do Eqüino														
	2	4	5	6	7	8	9	11	14	16	17	18	19	22	23
Adrenal	•	o	o	o	o	o	o	o	•	•	•	•	o	•	o
Baço	o	o	o	•	•	o	o	•	•	•	•	•	o	o	•
Coração	•	o	o	o	o	o	o	o	•	•	•	•	o	•	o
Encéfalo	•	o	o	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Fígado	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	o	•	•
Globo ocular	•	o	o	o	o	o	o	o	o	•	•	•	o	•	•
Intestino	•	•	•	•	•	•	o	o	•	•	•	•	o	•	o
Linfonodos	•	•	•	•	o	o	•	o	•	•	•	•	o	o	•
Língua	•	o	o	o	o	o	o	o	o	•	•	•	o	•	•
Medula espinhal	•	o	o	o	o	•	o	o	•	•	•	•	o	•	o
Músculos	•	o	o	o	o	o	o	o	o	•	•	•	o	•	o
Nervo óptico	•	o	o	o	o	o	o	o	o	•	•	•	o	•	•
Nervos periféricos	o	o	o	o	o	o	o	o	o	•	•	•	o	•	o
Pulmão	•	•	•	•	o	o	o	o	•	•	•	•	o	•	o
Rim	o	o	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	o	•	•

• = Material coletado, o = material não coletado.



Figura 4 – Hemisfério de eqüino seccionado longitudinalmente. Vista medial do encéfalo. As linhas numeradas indicam os locais onde foram efetuados os cortes coronais para estudo da distribuição das lesões histológicas no encéfalo. **1**, bulbo na altura do óbex; **2**, cerebelo; **3**, ponte na altura dos pedúnculos cerebelares; **4**, mesencéfalo na altura dos colículos rostrais; **5**, córtex occipital; **6**, seção do diencefalo na altura da massa intermédia, e **7**, seção através do joelho do corpo caloso e dos núcleos basais.

Figura 5 – Seções obtidas dos sete locais mostrados na Figura 4. Essas seções indicam os locais onde foram realizados cortes histológicos para estudo da distribuição das lesões. **BO**, bulbo; **CE**, cerebelo; **PE**, ponte; **ME**, mesencéfalo; **CO**, córtex occipital; **CP**, córtex parietal; **HC**, hipocampo; **TA**, tálamo; **CF**, córtex frontal; e **NB**, núcleos basais.

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Epidemiologia**

A Propriedade A está localizada entre dois rios, no município de Alegrete, Rio Grande do Sul. No verão de 2002-2003, os equinos dessa propriedade foram mantidos, a maior parte do tempo, às margens de um dos rios, num pasto identificado como Invernada da Barra (Figuras 6 e 7). Nesse local, há abundante mata ciliar e a fauna nativa incluía grande número de capivaras. A Propriedade B está localizada no município de São Sepé, Rio Grande do Sul, e a Propriedade C e D são limítrofes à Propriedade A. A população de equinos da raça crioula na Propriedade A era de 120 éguas e 5 garanhões. Desses, morreram 51 éguas e dois garanhões num período de 4 anos (2003-2006). Essa propriedade recebia anualmente éguas de outros estabelecimentos para cobertura. Em novembro de 2002, 11 éguas da Propriedade B, três delas com potro ao pé, foram enviadas para cobertura na Propriedade A, onde permaneceram até fevereiro de 2003, retornando então à Propriedade B. Um dos três potros morreu na Propriedade A; as 11 éguas e os dois potros restantes voltaram em condição corporal inadequada e poucas éguas estavam prenhes. Inicialmente, a condição foi interpretada como desnutrição por falta de alimento e os equinos foram colocados em alimentação intensiva, sem melhora do estado corporal. Foi verificado mais tarde que 6 dessas éguas tinham marcha incoordenada com instabilidade dos membros pélvicos e atrofia dos músculos da coxa e garupa. Essas 6 éguas e os dois potros acabaram morrendo. Nessa época, na Propriedade C, ocorreram casos da mesma doença em equinos, mas não foi possível precisar o número exato de animais afetados. Apenas um equino da Propriedade D adoeceu. Esse equino permaneceu doente por quase dois anos e morreu em outubro de 2005. Além dos equinos da Propriedade B, estima-se que mais 70 éguas tenham sido enviadas para cobertura na Propriedade A. Dessas, 55 adoeceram e 50 morreram. No entanto, nenhum desses animais foi acompanhado

pelos autores. Foi relatado que, pouco antes do início dos surtos, na Propriedade A morreram várias capivaras que apresentaram sinais clínicos de incoordenação. Há evidências que, no início do surto, funcionários da Propriedade A usavam uma mesma agulha para injeção endovenosa e intramuscular em vários eqüinos. Na Propriedade A, novos casos ocorreram até outubro de 2004. Nas outras propriedades apenas adoeceram os eqüinos que tinham estado na Propriedade A. Desde novembro de 2004 a doença foi controlada na Propriedade A e apenas uma morte ocorreu em fevereiro de 2006.

## **4.2 Sinais clínicos**

Os eqüinos mostraram uma doença crônica caracterizada principalmente por caquexia e anemia. Nesse tipo de apresentação clínica inicialmente havia emagrecimento progressivo (apesar de apetite voraz) (Figura 8), letargia, incoordenação e instabilidade dos membros pélvicos, atrofia das grandes massas musculares dos membros pélvicos (Figura 9), dificuldade para levantar, fraqueza muscular, palidez das mucosas, icterícia, edema subcutâneo e abortamento (Tabela 4 e Figura 10). Os eqüinos que apresentavam a doença crônica mostravam emagrecimento progressivo e não se recuperavam. A evolução dos sinais clínicos foi de 1-20 meses. Os poucos animais que sobreviveram mantêm-se até agora em mau estado corporal (Figura 11).

Dez eqüinos (Eqüinos 7, 8, 14, 16-20, 22 e 23), a maioria dos quais havia desenvolvido a doença crônica (Tabela 2), apresentaram uma manifestação neurológica central com ataxia acentuada (Figuras 12-14), cegueira, andar em círculos (Figura 15), hiperexcitabilidade, embotamento, déficits proprioceptivos, quedas (Figura 16), desvio da cabeça, movimentos de pedalagem e pressão da cabeça contra objetos. O Eqüino 11 apresentou “posição de cão sentado”. A evolução dessa apresentação clínica foi de 2-20 dias.

## **4.3 Hematologia**

No hemograma de 17 dos 18 eqüinos avaliados pôde-se observar anemia de intensidade variável com hematócritos entre 8 e 31%. A contagem de eritrócitos e os níveis de hemoglobina oscilaram de 1,9-6,5 milhões/mm<sup>3</sup> de sangue e de 2,7-10,3g/dl, respectivamente. Em 15 dos 17 casos a anemia era normocítica normocrômica, com volume corpuscular médio

(VCM) entre 40,1 e 58,3 fentolitros e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) entre 31,0 e 38,0%. Nos outros dois casos a anemia era macrocítica hipocrômica, com VCM entre 78,1 e 78,9 fentolitros e CHCM entre 28,0 e 29,3%. A contagem de leucócitos esteve alterada em 9 dos 18 eqüinos. Em todos esses casos ocorreu leucocitose que oscilou entre 17.700 e 39.800 leucócitos/mm<sup>3</sup> de sangue. Essa leucocitose foi sempre em decorrência do aumento moderado ou acentuado na quantidade de linfócitos. Outros dois eqüinos desenvolveram linfocitose leve que não alterou a contagem total de leucócitos. Dessa forma, 11 dos 18 eqüinos apresentaram algum grau de linfocitose, que variou entre 8.220 e 34.620 linfócitos/mm<sup>3</sup> de sangue.

Em 5 dos 18 eqüinos a avaliação dos esfregaços sangüíneos demonstrou grandes linfócitos com núcleo redondo não-clivado constituído de cromatina frouxa e quantidade moderada de citoplasma basofílico (linfócitos atípicos). Em um desses 5 casos os linfócitos freqüentemente eram observados na forma de aglomerados celulares (Figura 17) e em outro podiam também ser visualizados macrófagos fagocitando eritrócitos (Figura 18). Exemplares de protozoários flagelados, caracterizados morfológicamente como pertencentes ao gênero *Trypanosoma* (Figura 19), foram observados em 4 dos 18 eqüinos em que o sangue foi avaliado. Posteriormente, esses hematozoários foram classificados com base na sua morfologia como *T. evansi*<sup>3</sup>. Dezoito dos 19 eqüinos em que a PPT foi determinada apresentaram hiperproteinemia de intensidade variável (8,0-10,0g/dl). Todos os cinco eqüinos em que as frações das proteínas no soro foram determinadas apresentaram hiperglobulinemia devido principalmente ao aumento das  $\gamma$ -globulinas. Em dois casos houve um aumento na concentração das  $\beta$ -globulinas (Tabela 5).

#### 4.4 Sorologia

Altos níveis de anticorpos para *T. evansi* foram demonstrados no soro de 15 de 70 eqüinos avaliados na propriedade A. Desses, cinco eqüinos eram clinicamente afetados (Eqüinos 16, 18, 20-23). Quatro desses cinco eqüinos morreram (Eqüinos 16, 18, 20 e 22).

---

<sup>3</sup>Identificação realizada pela Profa. Dra. Marta Maria Geraldês Teixeira, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes 1374, Cidade Universitária, 05508-900 São Paulo, SP, Brasil.

#### 4.5 Achados de necropsia e histopatologia

Achados de necropsia incluíam esplenomegalia, linfadenomegalia, hiperplasia dos folículos linfóides do baço (Figura 20) e dos linfonodos e atrofia das grandes massas musculares dos membros pélvicos. Dos 10 eqüinos que mostraram sinais neurológicos centrais, apenas um (Eqüino 20) não foi necropsiado. Em sete dos eqüinos necropsiados havia alterações macroscópicas no encéfalo (Eqüinos 7, 16-19, 22 e 23). Os hemisférios telencefálicos estavam com as circunvoluções achatadas, com prolapso subtentorial do lobo occipital (Figura 21), e assimétricas (Figura 22) e as meninges estavam espessadas. Ao corte, nos lobos telencefálicos parietal e temporal e se estendendo até os núcleos da base, a substância encefálica de um dos lados estava amarelada, gelatinosa e distendida (Figuras 23 e 24). Nos Eqüinos 18 e 22, essa mesma lesão ocorreu no tronco encefálico (Figuras 23 e 25). No encéfalo dos Eqüinos 14 e 16, havia hemorragias nos giros do telencéfalo (Figura 26). Lesões semelhantes estavam presentes em segmentos da medula espinhal lombar do Eqüino 11.

Histologicamente, no baço (Figuras 27 e 28) e nos linfonodos (Figuras 29 e 30) havia hiperplasia dos folículos linfóides, grande número de células plasmocitárias blásticas (plasmoblastos), eritrofagocitose e hemossiderose. No fígado havia infiltrado inflamatório mononuclear nos espaços-porta, hiperplasia das células de Kupffer, necrose centrolobular moderada e hemossiderose (Figuras 31 e 32). Nos músculos esqueléticos do Eqüino 2 e nos nervos periféricos dos Eqüinos 2 e 16, havia infiltrado inflamatório mononuclear perineural com degeneração walleriana. Nos músculos da coxa havia necrose flocular e hialina, alternada com regeneração de miofibras, infiltrado inflamatório mononuclear entre as fibras e hemossiderose acentuada (Figura 33).

As lesões histológicas no encéfalo de 9 eqüinos, os mesmos que apresentaram sinais neurológicos centrais, incluíam meningoencefalite linfoplasmocitária, que variou quanto à localização e intensidade nos eqüinos examinados e nas seções de encéfalo de um mesmo caso (Figuras 34-37). Os achados foram caracterizados principalmente por alterações inflamatórias (meningoencefalite linfoplasmocitária), circulatórias (edema e hemorragia) e degenerativas (malacia). A intensidade das lesões foi mais acentuada, em ordem decrescente, no córtex parietal, núcleos basais, tálamo, córtex occipital, córtex frontal, hipocampo, mesencéfalo, pedúnculos cerebelares, cerebelo, bulbo na altura do óbex, medula espinhal cervical, medula espinhal torácica e medula espinhal lombar. O infiltrado inflamatório ocorria

no espaço de Virchow-Robin e em vasos meníngeos, podendo formar até 20 camadas de células. Esse infiltrado era constituído predominantemente por linfócitos e plasmócitos e era localizado principalmente na substância branca. Muitos dos plasmócitos apresentavam grânulos eosinofílicos no citoplasma (corpúsculos de Russel), o que dava à célula um aspecto de mórula (célula de Mott) (Figuras 38 e 39). Ocasionalmente eram vistos plasmócitos com citoplasma homogêneo e intensamente eosinofílico (“células em flama”). Outra característica do infiltrado perivascular era a presença de linfoblastos e plasmoblastos. Nos Equinos 7, 16-19, 22 e 23 foram observados graus mais acentuados de lesão em um dos lados do encéfalo. Em alguns casos havia tumefação das células endoteliais dos vasos do encéfalo (Figura 40). Em todos os casos foi possível a observação de vários graus de gliose focal (Figura 41) ou difusa (Figura 42), caracterizados por hiper celularidade da micróglia. Hemossiderina no citoplasma de macrófagos foi observada na luz de vasos sanguíneos e espaços perivasculares em diferentes quantidades nas diferentes regiões do encéfalo de todos os casos (Figura 43). Hemorragia foi observada em 5 casos (Figura 44), presença de astrócitos de Alzheimer tipo II em 7 casos (Figura 45) e esferóides axonais em 6 casos (Figura 46). Graus variados de edema foram observados na substância branca de todos os casos examinados. As áreas amarelas e gelatinosas correspondiam, na microscopia, a áreas focalmente extensas de edema e malacia (Figuras 47 e 48). Não foram observadas alterações no gânglio de Gasser e hipófise. A medula espinhal cervical foi examinada em 7 casos; em três casos observava-se meningiomielite leve a moderada e meningite em outros dois casos. Na porção torácica e lombar da medula espinhal examinadas em 5 e 4 casos, respectivamente, as lesões foram semelhantes às encontradas na porção cervical, embora houvesse uma redução na intensidade das lesões. Além dos casos citados anteriormente, lesões semelhantes, porém em grau acentuado, foram observadas na medula espinhal lombar do Equino 11, que assumiu “posição de cão-sentado” (Figuras 49-51). O tipo, a intensidade e a distribuição histológica das lesões encontradas no encéfalo dos equinos com sinais neurológicos necropsiados neste estudo encontram-se nas Figuras 52 e 53.

#### **4.6 Imunoistoquímica**

Numerosos exemplares de *T. evansi* foram demonstrados no encéfalo dos 8 equinos (Equinos 7, 8, 14, 16-18, 22 e 23) submetidos à técnica de imunoistoquímica (IHQ). Os parasitas estavam presentes nos espaços de Virchow-Robin e na neurópila do encéfalo (Figura

54). O núcleo era fortemente corado, o citoplasma era moderadamente corado e as membranas celulares eram claramente delineadas. Amostras de encéfalo do Equino 7 e da medula espinhal lombar do Equino 11 submetidas à IHQ, foram negativas para antígeno de *T. evansi*.

Tabela 4 – Sinais clínicos apresentados pelos eqüinos naturalmente infectados por *Trypanosoma evansi*.

Sinais clínicos\Eqüino	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
<b>Forma caquetizante</b>																							
Atrofia muscular	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+
Dificuldade para levantar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	
Dor à palpação garupa	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Edema subcutâneo	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Emagrecimento	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Fraqueza	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Icterícia	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Inst. e incoordenação dos MP	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Letargia	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+
Marcha oscilante	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Palidez das mucosas	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Paresia dos posteriores	-	-	-	+	+		-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<b>Forma neurológica central</b>																							
Andar em círculos	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+
Ataxia acentuada	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
Cegueira	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	
Déficits proprioceptivos	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
Desvio da cabeça	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
Embotamento	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Hiperexcitabilidade	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-
Movimentos de pedalagem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Paralisia facial	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
“Posição de cão sentado”	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pressão da cabeça contra objetos	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Quedas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-



Tabela 5 – Determinação das proteínas séricas de cinco eqüinos com tripanossomíase por *Trypanosoma evansi*.

Frações	16	18	20	21	22	Valores Referência
Albumina	2,57	3,70	3,27	2,09	3,46	2,3-3,9g/dl
Alfa-1	0,12	0,12	0,12	0,09	0,07	0,06-0,7g/dl
Alfa-2	0,25	1,26	0,22	0,36	0,43	0,31-1,31g/dl
Beta-1	0,80	0,44	1,09	0,86	0,65	0,4-1,58g/dl
Beta-2	0,80	1,46	1,97	0,86	0,68	0,29-0,89g/dl
Gama	3,46	3,02	3,24	3,75	2,41	0,55-1,9g/dl
PT	8,00	10,00	9,90	8,00	7,70	5,7-7,9g/dl
A/G	0,47	0,59	0,49	0,35	0,81	0,62-1,5g/dl

Figura 6 – Localização da propriedade A no Rio Grande do Sul onde ocorreram casos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em eqüinos.

Figura 7 – Propriedade A. Invernada da Barra (ver Figura 6), onde os eqüinos foram mantidos durante a temporada de 2002-2003.

Figura 8 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 2. Emagrecimento e atrofia do músculo semimembrânico.

Figura 9 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 23. Incoordenação e instabilidade dos membros pélvicos. Nota-se acentuada atrofia dos músculos da garupa.

Figura 10 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos apresentados por 23 eqüinos com tripanossomíase.

Figura 11 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 21, que desenvolveu a forma crônica e não recuperou a condição corporal.

Figura 12 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 18. Ataxia. Esse eqüino também andava em círculos e tinha déficits de propriocepção acentuados.

Figura 13 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 18. O andar atáxico pode ser percebido pelos membros torácicos afastados e pelo cruzamento dos membros pélvicos.

Figura 14 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 18, iniciando queda.

Figura 15 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 23, com andar em círculos arrastando o membro pélvico esquerdo.

Figura 16 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Sinais clínicos. Eqüino 14. Sinais neurológicos encefálicos que provocaram colapso do corpo sobre os membros torácicos.

Figura 17 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Hematologia. Eqüino 21. Aglomerados de grandes linfócitos no esfregaço sangüíneo. Panótico rápido.

Figura 18 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Hematologia. Eqüino 3. Um macrófago fagocitando um eritrócito pode ser observado na parte central da figura, no esfregaço sangüíneo. Na parte inferior esquerda da figura há um aglomerado de grandes linfócitos. Panótico rápido.



Figura 19 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Hematologia. Eqüino 3. Quatro exemplares de *Trypanosoma evansi* podem ser observados no esfregaço sangüíneo. Panótico rápido.

Figura 20 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 16. Superfície de corte do baço mostrando hiperplasia dos folículos linfóides.

Figura 21 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 18. Achatamento das circunvoluções do encéfalo e prolapso subtentorial do lobo occipital (\*).

Figura 22 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 19. Superfície de corte do encéfalo mostrando assimetria dos hemisférios telencefálicos. A assimetria é causada por edema da substância branca do hemisferio à direita.

Figura 23 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 22. Áreas focalmente extensas, amarelas, gelatinosas e distendidas são observadas no lado direito do mesencéfalo, tálamo e núcleos basais.

Figura 24 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 22. Aproximação da figura anterior.

Figura 25 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 22. Aspecto aproximado do tálamo mostrando área focalmente extensa de edema e malacia caracterizada por área amolecida e amarelada.

Figura 26 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Achados de necropsia. Eqüino 16. Hemorragia nos giros telencefálicos.

Figura 27 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Baço. Hemossiderose. Acúmulo de pigmento marrom-castanho (hemossiderina) no citoplasma de macrófagos. Hematoxilina e eosina.

Figura 28 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Baço. Hemossiderose. Observe a grande quantidade de pigmento corado de azul. Azul da Prússia

Figura 29 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 16. Linfonodo. Hiperplasia. Celularidade aumentada com predomínio de plasmoblastos plasmócitos e numerosas células de Mott. Hematoxilina e eosina.

Figura 30 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 9. Linfonodo. Hemossiderose. Observe a abundante quantidade de pigmento castanho (hemossiderina) no citoplasma de macrófagos. Hematoxilina e eosina.

Figura 31 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Fígado. Hemossiderose. Observe o pigmento castanho (hemossiderina) no citoplasma de hepatócitos (seta) e células de Kupffer (cabeça de seta). Hematoxilina e eosina.

Figura 32 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Fígado. Hemossiderose, observe o pigmento corado de azul no interior do citoplasma de hepatócitos (setas) e células de Kupffer (cabeça de seta). Azul da Prússia.

Figura 33 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 2. Músculo estriado da coxa com infiltrado inflamatório mononuclear entre as fibras e hemossiderose. Hematoxilina e eosina.

Figura 34 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Infiltrado inflamatório perivascular leve e numerosos vacúolos na neurópila. Hematoxilina e eosina.



Figura 35 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo. Infiltrado inflamatório perivascular moderado. Hematoxilina e eosina.

Figura 36 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo. Infiltrado linfoplasmocitário perivascular acentuado. Hematoxilina e eosina.

Figura 37 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo e meninges. Infiltrado linfoplasmocitário meníngeo e perivascular acentuado. Hematoxilina e eosina.

Figura 38 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 23. Encéfalo. Plasmócitos com grânulos eosinofílicos no citoplasma (células de Mott) em meio ao infiltrado inflamatório perivascular. Hematoxilina e eosina.

Figura 39 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 23. Encéfalo. Plasmócitos com grânulos eosinofílicos no citoplasma (células de Mott) isolados na neurópila edemaciada (setas). Hematoxilina e eosina.

Figura 40 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo. Tumefação acentuada do endotélio de vasos do encéfalo. Hematoxilina e eosina.

Figura 41 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 22. Encéfalo. Gliose focal. Hematoxilina e eosina.

Figura 42 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 7. Encéfalo. Gliose difusa. Hematoxilina e eosina.

Figura 43. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Os macrófagos no infiltrado perivascular contêm pigmento castanho (hemossiderina) no citoplasma. Há grande quantidade de plasmoblastos no infiltrado perivascular, células inflamatórias em mitose (cabeça de seta) e macrófagos fagocitando eritrócitos (seta). Hematoxilina e eosina.

Figura 44 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Hemorragia focal. Hematoxilina e eosina.

Figura 45 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Presença de astrócitos de Alzheimer tipo II, caracterizadas por pares de células com núcleo tumefeito e cromatina rarefeita. Hematoxilina e eosina.

Figura 46 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Esferóides axonais (setas) associados a acentuado infiltrado inflamatório perivascular. Hematoxilina e eosina.

Figura 47 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Edema e malacia. À esquerda aparece grande acúmulo de material róseo-claro homogêneo (edema) dissociando os tratos da substância branca. Hematoxilina e eosina.

Figura 48 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 14. Encéfalo. Edema e malacia. Em maior aumento podem-se perceber várias células “gitter” associadas ao edema e à malacia. Hematoxilina e eosina.

Figura 49 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 11. Medula espinhal lombar. Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário acentuado, edema e focos de malacia. Hematoxilina e eosina.

Figura 50 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 11. Medula espinhal lombar. Infiltrado inflamatório meníngeo e perivascular acentuado na porção ventral da medula. Hematoxilina e eosina.



Figura 51 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Histopatologia. Eqüino 11. Medula espinhal lombar. Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário leve e tumefação dos núcleos das células endoteliais. Hematoxilina e eosina.

Figura 52 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Distribuição e intensidade das alterações histológicas totais no sistema nervoso central.

Figura 53 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Distribuição e intensidade do infiltrado inflamatório no sistema nervoso central.

Figura 54 – Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em eqüinos. Imunoistoquímica. Eqüino 18. Numerosos exemplares de *T. evansi* aparecem marcados na neurópila em cortes do encéfalo.

## 5 DISCUSSÃO

O diagnóstico de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* foi baseado nos dados epidemiológicos, clínicos, hematológicos, patológicos e, principalmente, na presença do parasita em esfregaços sangüíneos, na sorologia positiva para *T. evansi* através da técnica de ELISA e na detecção do parasita no encéfalo através do uso da técnica de imunistoquímica (IHQ). Alguns casos isolados que ocorreram nos surtos aqui descritos, foram relatados anteriormente (Moraes et al., 2004; Conrado et al., 2005), embora dados epidemiológicos, de necropsia e histopatológicos não tenham sido mencionados (Conrado et al., 2005) ou tenham sido mencionados apenas superficialmente (Moraes et al., 2004).

Os dados epidemiológicos colhidos neste estudo indicam que os primeiros casos ocorreram na Propriedade A e foram disseminados para os eqüinos de outras propriedades que enviaram éguas para cobertura na Propriedade A. Acredita-se que as capivaras tenham sido a fonte de infecção nestes surtos, pois elas estiveram em contato com os eqüinos durante o período em que esses permaneceram nas margens dos rios. Algumas evidências apóiam essa hipótese. A principal delas baseia-se em relatos dos funcionários da Propriedade A, que informaram que muitas capivaras apresentaram incoordenação e foram encontradas mortas na mesma época e próximas do local onde as éguas eram mantidas (Invernada da Barra). Vários trabalhos implicam as capivaras como importantes reservatórios para *T. evansi* (Hoare, 1972; Morales et al., 1976; Nunes et al., 1993; Franke et al., 1994; Muñoz & Chavez 2001). Capivaras, e também quatis, geralmente desenvolvem uma forma crônica da doença e podem apresentar infecções subclínicas (Nunes et al., 1993; Franke et al., 1994; Muñoz & Chávez, 2001; Herrera et al., 2001; 2002; 2004). Segundo relatos de pecuaristas pantaneiros, surtos de tripanossomíase em eqüinos geralmente são precedidos pela doença em capivaras (Silva et al., 2002). A prevalência de *T. evansi* é maior em capivaras mantidas em fazendas do que nas capivaras de vida livre. Um aumento na densidade populacional de capivaras próximas aos

equínos pode resultar num aumento do desafio de *T. evansi* para capivaras e equínos (Stevens et al., 1989).

Outros animais poderiam participar na transmissão de *T. evansi* para os equínos, como os bovinos e os cães, que podem ser reservatórios eficientes pelo contato estreito com os equínos (Franke et al., 1994); os quatis, que podem também abrigar o parasita (Nunes et al., 1993; Herrera et al., 2001; 2002); na América do Sul, os morcegos hematófagos podem atuar tanto como reservatórios quanto como vetores para *T. evansi* (Hoare, 1972). É, no entanto, pouco provável que esses reservatórios estivessem envolvidos ou que tivessem papel importante na epidemiologia dos surtos aqui descritos. Na Propriedade A, os cães e os bovinos eram mantidos afastados dos equínos e nenhum desses animais foi encontrado doente com sinais clínicos de tripanossomíase nesse período. Além disso, furnas habitadas por morcegos hematófagos não foram encontradas na propriedade, e não havia qualquer evidência de que os equínos tivessem sido expoliados por morcegos. Os quatis, embora tenham sido originalmente descritos como uma espécie de ampla distribuição no Rio Grande do Sul, com ocorrência em mais de um ecossistema e região geomorfológica, são atualmente um táxon com baixa densidade populacional (espécie vulnerável). Dessa forma, os quatis têm experimentado grandes retrações de distribuição e até mesmo extinções regionais. Assim, os últimos registros de aparecimento de bandos foram provenientes de áreas de floresta estacional, no centro, nordeste e noroeste do estado, não havendo descrições recentes desses animais nas áreas de campo da região da Campanha, à qual pertence o município de Alegrete (Indrusiak & Eizirik, 2003). Além disso, funcionários da Propriedade A afirmam nunca terem visto quatis nas redondezas.

A transmissão inicial provavelmente ocorreu através da picada de insetos hematófagos, pois os equínos eram mantidos próximos à mata ciliar, local com grande número de insetos, incluindo tabanídeos. Além disso, o surto iniciou no verão, época com maior número desses insetos. *T. evansi* pode ser transmitido mecanicamente por insetos hematófagos das famílias Tabanidae e Stomoxidae (*Stomoxis niger*, *S. taeniatus* e *S. calcitrans*) (Hoare, 1972), entretanto, é interessante observar que carrapatos têm sido sugeridos como vetores na transmissão de *T. evansi* e *T. vivax* (Camargo et al., 2004). Isso levanta a possibilidade de um carrapato estar envolvido na transmissão de *T. evansi* de capivaras para os equínos. O carrapato-estrela (*Amblyomma cajennense*) parasita capivaras e equínos (Figueiredo et al., 1999) e, embora não existam relatos de que esse carrapato possa atuar como vetor de *T. evansi*, é possível imaginar que, considerando a informação de que as capivaras morreram em grande número na Propriedade A, os carrapatos-estrela teriam apenas os equínos como

hospedeiros alternativos. Nesse cenário, a transmissão capivara-equino não seria improvável. Um outro fato que pode ter contribuído para a disseminação da doença entre os equinos foi o uso de uma mesma agulha para injeções em vários equinos nas fases iniciais do surto, já que a transmissão mecânica dos tripanossomas de um mamífero para outro pode ocorrer também de forma iatrogênica, através do uso de agulhas contaminadas com sangue infectado (Hoare, 1972).

As manifestações clínicas nos equinos afetados nos surtos aqui descritos foram divididas numa forma caquetizante e numa forma neurológica central. A forma aqui denominada caquetizante era caracterizada por emagrecimento, letargia, incoordenação e instabilidade dos membros pélvicos, atrofia das grandes massas musculares dos membros pélvicos, dificuldade para levantar, fraqueza muscular, palidez das mucosas e edema do tecido subcutâneo, com um curso clínico crônico que variava de semanas até vários meses. Essa forma é relatada na literatura como aguda ou subaguda (Silva et al., 1995b; Marques et al., 2000; Herrera et al., 2004), mas preferimos considerá-la como crônica, devido ao seu longo período de evolução. A outra forma com sinais neurológicos centrais será discutida mais adiante.

Dezessete dos 18 equinos (94,4%) avaliados hematologicamente apresentaram graus variáveis de anemia. A patogênese da anemia em animais infectados por *T. evansi* não é completamente esclarecida (Silva et al., 1995a; Marques et al., 2000; Aquino et al., 2002), mas é sugerido um processo hemolítico (Anosa & Kaneko, 1983; Jenkins & Facer, 1985) provavelmente relacionado à destruição dos eritrócitos pelo sistema imune (Jenkins & Facer, 1985). Anemias hemolíticas imunomediadas podem ocorrer como uma doença primária ou como um processo secundário à ingestão de medicamentos, contato com substâncias químicas ou infecção por microorganismos (Day, 2000). Atualmente, sabe-se que muitas das anemias hemolíticas de origem infecciosa dos animais domésticos (Day, 2000; Barker, 2000) e dos seres humanos (Aster, 2005a) estão relacionadas a esse mecanismo patogênico. A maioria das espécies animais com anemia hemolítica imunomediada desenvolve acentuada resposta eritróide e esferocitose (Barker, 2000; Day, 2000; Harvey 2001). Equinos, no entanto, não liberam reticulócitos na circulação, o que não permite uma avaliação quanto à regeneração eritróide apenas sob esse aspecto (Jain, 1986), e a esferocitose raramente pode ser reconhecida nessa espécie, devido ao seu baixo volume corpuscular médio (Barker, 2000; Harvey, 2001).

Alterações leucocitárias quantitativas relatadas em equinos com tripanossomíase por *T. evansi* incluem neutropenia (Silva et al., 1995b), neutrofilia (Marques et al., 2000), monocitose (Silva et al., 1995b), linfopenia (Marques et al., 2000) e linfocitose (Silva et al., 1995b). Nos casos aqui descritos, 11 dos 18 equinos (61,1%) apresentavam linfocitose,

provavelmente devido à estimulação antigênica prolongada. Esse parece ser um dos achados hematológicos mais importantes nos eqüinos com tripanossomíase por *T. evansi* deste surto, fato esse já bem documentado na tripanossomíase de bovinos por *T. theileri* (Jain, 1986).

Outro achado interessante observado na circulação de 5 dos eqüinos afetados foi a presença de linfócitos atípicos, células com características morfológicas diferentes das consideradas normais para uma espécie, mas não-neoplásicas (Harvey, 2001). Embora poucos relatos descrevam a presença de linfócitos atípicos na circulação de animais com tripanossomíase (Emeribe & Anosa, 1991), a presença dessas células no sangue de 27,8% dos eqüinos avaliados neste estudo sugere que elas sejam um achado hematológico importante em eqüinos com tripanossomíase por *T. evansi*. Outras doenças por protozoários (toxoplasmose, babesiose e malária) em seres humanos têm sido associadas à presença de linfócitos atípicos na circulação (Bain, 1997).

As doenças hemolíticas infecciosas descritas em eqüinos no Brasil incluem a babesiose (*B. equi* e *B. caballi*), a anemia infecciosa eqüina e a tripanossomíase. Todas essas doenças cursam com um quadro hemocaterético até certo ponto muito semelhante. No entanto, alguns achados hematológicos específicos podem auxiliar na diferenciação dessas enfermidades. Na babesiose, a presença de trofozoítos intra-eritrocitários é uma característica importante para o diagnóstico da doença (Radostits et al., 2002b) e quando a infecção é por *B. equi* os protozoários podem ocasionalmente formar corpúsculos cruciformes (cruz de Malta) no interior dos eritrócitos ou ocorrer isoladamente no citoplasma de linfócitos. Além disso, na babesiose, o plasma pode estar avermelhado pela hemólise intravascular (Jain, 1986). Na anemia infecciosa eqüina, embora os achados eritróides sejam praticamente idênticos aos da tripanossomíase, ocorre uma alteração leucocitária muito característica que é caracterizada pela presença de grânulos de hemossiderina no citoplasma de neutrófilos (sideroleucócitos); por muitos anos, antes da implementação da imunodifusão em ágar, essa alteração foi empregada para se fazer o diagnóstico clínico dessa doença (Harvey, 2001). Assim, a partir desses achados é quase sempre possível diferenciar hematologicamente essas duas outras doenças hemolíticas da tripanossomíase por *T. evansi* em eqüinos. O achado dos tripanossomas nos esfregaços sangüíneos define o diagnóstico.

Nesse estudo, um achado consistente foi a hiperproteinemia, uma alteração laboratorial previamente descrita em camelos (Jaktar et al., 1973; Boid et al., 1980) e cães (Aquino et al., 2002) infectados experimentalmente por *T. evansi* e naturalmente por *T. cruzi* (Couto, 2001). Essa hiperproteinemia decorre do aumento policlonal na concentração das  $\gamma$ -globulinas e diminuição concomitante nos níveis de albumina (Jaktar et al., 1973; Boid et al., 1980). O

aumento nas  $\gamma$ -globulinas representa a atividade de plasmócitos produzindo diversas imunoglobulinas, geralmente em resposta a estimulação antigênica crônica. Algumas imunoglobulinas (particularmente IgM) migram na região das  $\beta$ -globulinas e aumentos policlonais nas  $\beta$ -globulinas estão geralmente associados a aumentos nas  $\gamma$ -globulinas (Johnston & Morris, 1993), como observado em dois eqüinos deste relato e em camelos cronicamente infectados por *T. evansi* (Jaktar et al., 1973). O aumento das  $\gamma$ -globulinas pode ser em decorrência do aumento significativo dos níveis de IgM nos animais infectados (Boid et al., 1980). Nos cães com tripanossomíase americana, essa hiperproteinemia é decorrente do aumento policlonal nos níveis das globulinas, mas ocasionalmente pode ocorrer de forma monoclonal (Couto, 2001).

A outra forma da doença, apresentada por 10 eqüinos, ocorreu como distúrbio neurológico relacionado a alterações encefálicas ou medulares. Essa forma foi observada em eqüinos como uma fase terminal da doença crônica caquetizante ou em eqüinos sem sinais crônicos prévios. Sinais clínicos e alterações histopatológicas semelhantes aos observados em nossos casos são raramente descritos na literatura (Seiler et al., 1981).

No Brasil, poucos relatos descrevem a apresentação clínica em eqüinos infectados naturalmente (Silva et al., 1995a,b) ou experimentalmente (Marques et al., 2000) por *T. evansi*. Nessas raras descrições, o curso clínico da doença geralmente é de poucos meses e os sinais clínicos comumente observados são febre, conjuntivite, edema das patas e partes baixas do corpo, fraqueza progressiva, abortamento, perda da condição corporal e perda de apetite. Num estágio final da doença são descritos sinais clínicos de distúrbios neurológicos caracterizados por paresia gradual dos membros pélvicos, resultando em andar cambaleante, incoordenação e relutância em se mover. Esses sinais clínicos são semelhantes aos observados neste surto na forma crônica caquetizante da doença, mas os distúrbios neurológicos centrais descritos aqui em 10 eqüinos não tinham sido ainda relatados em eqüinos infectados com *T. evansi* no Brasil. No entanto, jumentos infectados experimentalmente com *T. evansi* (Cadioli, 2001) apresentaram sinais clínicos de distúrbios encefálicos, caracterizados por torcicolo, dismetria e andar em círculos, e lesões encefálicas semelhantes às descritas em nossos eqüinos. Bovinos (Tuntasuvan et al., 1997, Tuntasuvan & Luckins, 1998), veados (Tuntasuvan et al., 2003) e búfalos (Sudarto et al., 1990) naturalmente infectados desenvolveram um quadro clínico e lesões semelhantes. Nessas espécies, a histomorfologia das lesões encefálicas não é relatada (Tuntasuvan et al., 1997) ou é relatada superficialmente (Sudarto et al., 1990; Tuntasuvan et al., 2000). No entanto, a única descrição mais detalhada das lesões encefálicas descritas em eqüinos infectados naturalmente por *T. evansi* (Seiler et

al., 1981) ficou algo esquecida na literatura e, embora seja ocasionalmente mencionada, as importantes lesões encefálicas descritas ali não são informadas.

Lesões encefálicas são também mencionadas na infecção experimental por *T. evansi* em eqüinos (Lemos, 2003), caninos (Aquino et al., 2002), cabras (Dargantes et al., 2005), quatis (Herrera et al., 2002) e búfalos (Damayanti et al., 1994), mas essas lesões consistem em infiltrado inflamatório perivascular leve localizado tanto no encéfalo quanto nas meninges.

As lesões encefálicas descritas nos eqüinos deste trabalho são notavelmente semelhantes às descritas em eqüinos infectados por *T. brucei brucei* (McCully & Neitz, 1971; Losos & Ikede, 1972; Moulton, 1986; Gibson, 1998), doença conhecida como *nagana* e transmitida por espécies de moscas tsé-tsé (*Glossina* spp.) e na tripanossomíase por *T. vivax* em bovinos da região nordeste do Brasil (Riet-Correa et al., 2003). As lesões dos eqüinos deste estudo são também virtualmente idênticas às lesões encefálicas descritas no único trabalho encontrado na literatura que detalha essas lesões em eqüinos infectados naturalmente por *T. evansi* (Seiler et al., 1981).

As lesões descritas aqui se assemelham também, notavelmente, às descrições da tripanossomíase por *T. brucei gambiense* e *T. brucei rhodesiense* em pessoas (Poltera et al., 1977; Lucas, 1992; Pentreath et al., 1994; Pepin et al., 1995; Dumas & Bouteille, 1996; Mhlanga et al., 1997; Gibson, 1998; Lonsdale-Eccles & Grab, 2002; McAdam & Sharp, 2005; Schwartz et al., 2006). Essas doenças são transmitidas por várias espécies de moscas tsé-tsé (*Glossina* spp.) e sua distribuição está relacionada aos habitats desses vetores biológicos (Gibson, 1998; Schwartz et al., 2006).

Um ponto adicional no relato dos nove casos da forma neurológica necropsiados neste estudo é que em oito desses casos o agente foi identificado em associação às lesões pela técnica de IHQ. Essa técnica, já tinha sido aplicada com sucesso na identificação de *T. evansi* associado às lesões encefálicas em búfalos (Sudarto et al., 1990) e veados (Tuntasuvan et al., 2000). No presente estudo, exemplares do parasita foram marcados no interior de vasos sangüíneos, na região perivascular e livres no parênquima encefálico. Isso comprova que os tripanossomas penetram no tecido encefálico, onde provocam uma lesão grave e geralmente fatal, e que a infecção natural por *T. evansi* em eqüinos deve ser considerada como uma importante causa de encefalite em eqüinos. Em apenas um caso a IHQ resultou negativa, mas as lesões morfológicas eram idênticas às dos outros eqüinos. Problemas relacionados com autólise e fixação prolongada podem estar relacionados com esse falso-negativo.



Adicionalmente, no presente trabalho foi estabelecido o tipo e a distribuição das lesões da infecção natural por *T. evansi* em eqüinos; isso pode auxiliar no diagnóstico diferencial entre essa e outras encefalites de eqüinos.

Acredita-se que um fator determinante para o desenvolvimento das lesões encefálicas nos eqüinos deste relato tenha sido a introdução do agente numa manada altamente susceptível – já que não há relatos anteriores dessa enfermidade na região – associada ao uso de doses subcurativas de aceturato de diminazene e de outros antiprotozoários nos eqüinos infectados. Vários estudos demonstram que a administração de doses subcurativas de aceturato de diminazene e de outras drogas tripanocidas podem prolongar o tempo de vida de animais experimentalmente infectados com *T. brucei* ssp. e, conseqüentemente, levar ao desenvolvimento de lesões no sistema nervoso central (McCully & Neitz, 1972; Schultzberg et al., 1988; Keita et al., 1997; Kennedy et al., 1997; Grab et al., 2004; Masocha et al., 2004; Ouwe-Missi-Oukem-Boyer et al., 2005; Sternberg et al., 2005). Esses medicamentos retiram os tripanossomas dos compartimentos extra-vasculares, mas não do sistema nervoso central (SNC) (Jennings & Gray, 1983), já que não ultrapassam a barreira hemato-encefálica (BHE) (Moulton, 1986; Kennedy et al., 1997). Os tripanossomas que conseguem sobreviver, replicam-se no SNC e fazem novos picos parasitêmicos devido a alterações nas glicoproteínas de superfície. A maneira com que esses tripanossomas conseguem penetrar a BHE e invadir o SNC ainda não foi definida. Vários mecanismos para a entrada dos tripanossomas no encéfalo foram anteriormente propostos, como 1) entrada dos parasitas no encéfalo através de áreas aonde a BHE é incompleta como os gânglios sensoriais e órgãos circunventriculares (Schultzberg, 1988), 2) deposição de imunocomplexos no estroma do plexo coróide provocando um processo imune local ou 3) liberação de substâncias tóxicas pelos tripanossomas causando a abertura das junções intercelulares (*zonula ocludens*) do epêndima (Lambert et al., 1981). Atualmente, acredita-se que a penetração dos tripanossomas ocorra em regiões onde há lesões na BHE induzidas diretamente pelos parasitas ou por outros mediadores que permitiriam sua entrada (Lonsdale-Eccles & Grab, 2002; Girard et al., 2003; Masocha et al., 2004; Schwartz et al., 2006). A entrada dos tripanossomas no SNC resulta na migração das células de defesa (inflamatórias) para esse local. A resposta inflamatória resulta em liberação de diferentes mediadores químicos, incluindo citocinas e proteases. Nesse cenário, uma interação entre as enzimas do hospedeiro e do tripanossoma podem levar à degradação da matriz intercelular do hospedeiro, o que permitiria a penetração dos parasitas no tecido e migração no parênquima encefálico (Lonsdale-Eccles & Grab, 2002); a

demonstração de tripanossomas na neurópila marcados pela técnica de IHQ no presente relato confirma que *T. evansi* atravessa a BHE. .

Várias outras doenças infecciosas de eqüinos têm apresentação clínica, lesões, e até mesmo distribuição do agente infeccioso, semelhantes aos casos aqui observados e devem ser incluídas no diagnóstico diferencial da forma neurológica da tripanossomíase por *T. evansi*. É interessante notar que inicialmente, os casos de doença em eqüinos descritos neste trabalho, tiveram um diagnóstico clínico de mieloencefalite eqüina por protozoário (MEP) e algumas amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) foram enviadas a um laboratório dos Estados Unidos e testaram positivo para *Sarcocystis neurona* no teste de *Western blot*. Embora os sinais clínicos neurológicos nesses casos possam lembrar MEP, a epidemiologia e as alterações microscópicas de tripanossomíase diferem grandemente do que é descrito para essa doença (Madigan & Higgins, 1989; MacKay, 1997; Dubey et al., 2001; Dubey, 2004; Saville & Granstrom, 2004), e não foram observados em nenhum dos casos aqui descritos. Casos de MEP ocorrem com baixa morbidade e afetam em geral um eqüino por rebanho ou região e, infreqüentemente, podem acometer pequenos grupos de animais (MacKay et al., 2000; Saville & Granstrom, 2004). Macroscopicamente hemorragias focais e áreas de alteração da cor (vermelho ao marrom escuro) podem ser observadas na medula espinhal ou tronco encefálico. As alterações microscópicas ocorrem mais comumente na medula espinhal do que no encéfalo, e consistem em hemorragias e necrose na neurópila e infiltrado mononuclear perivascular e no parênquima, envolvendo a substância branca e cinzenta (Barros et al., 1986; MacKay et al., 2000; Dubey, 2004). Além das alterações acima mencionadas, espécimes do agente etiológico da MEP, *Sarcocystis neurona*, podem ser observados em associação com as lesões (MacKay et al., 2000; Dubey, 2004). A detecção de anticorpos para *S. neurona* no soro de eqüinos indica exposição e não necessariamente doença clínica, mas a detecção de anticorpos no LCR indica uma produção local de anticorpos específicos devido à invasão do organismo no SNC, embora possa também ocorrer devido à contaminação do LCR por sangue, no momento da coleta, ou por um aumento na permeabilidade da BHE, causado por outra doença neurológica (MacKay et al., 2000; Dubey, 2004), o que muito provavelmente ocorreu nos casos dos eqüinos deste estudo. Aproximadamente um em cada dez eqüinos com sinais neurológicos pode testar positivo para anticorpos para *S. neurona* no LCR, mesmo que outra doença neurológica seja responsável pelos sinais clínicos (Dubey et al., 2001).

A mieloencefalopatia por Herpesvírus eqüino tipo 1 ocorre com déficits neurológicos marcantes, mas outros sinais clínicos, como corrimento nasal e tosse, também estão presentes ou precedem a forma neurológica (Wilson, 1997; Schlipf, 2001; Allen et al., 2004). As lesões

no SNC incluem áreas focais de hemorragia e ou áreas de malacia no encéfalo e medula espinhal. Microscopicamente observam-se principalmente vasculite e manguitos perivasculares mononucleares, em pequenas artérias e veias, tumefação das células endoteliais, necrose fibrinóide, trombose, edema perivascular e hemorragia (Kohn & Fenner, 1987; Wilson, 1997; Schlipf, 2001; Radostits et al., 2002a; Allen et al., 2004). Nos casos deste estudo, vasculite fibrinóide e trombose não foram observadas.

As encefalomyelites virais dos eqüinos (Leste, Oeste e Venezuelana) acometem principalmente eqüinos jovens e cursam com sinais clínicos semelhantes aos observados nos surtos deste relato, acrescidos de ptose labial, protrusão da língua, ranger de dentes e paralisia esofágica. Não há alterações macroscópicas, e histologicamente há necrose neuronal com neuronofagia, infiltrado perivascular mononuclear e neutrofílico e microgliose focal e difusa (Rico-Hesse, 2000; Del Piero et al., 2001; Radostits et al., 2002a; Gibbs, 2004; Bertone, 2004), podendo ocorrer necrose de liquefação, hemorragias (Rico-Hesse, 2000) e microabscessos (Del Piero et al., 2001). As lesões são mais pronunciadas na substância cinzenta do que na substância branca do encéfalo, enquanto a medula espinhal é levemente afetada (Rico-Hesse, 2000; Del Piero et al., 2001; Radostits et al., 2002a; Gibbs 2004). Nos casos aqui descritos, observou-se predominância das lesões na substância branca e alterações neuronais não foram observadas.

A febre do Nilo Ocidental cursa com sinais clínicos neurológicos, mas a doença não foi ainda diagnosticada no Brasil. Nesses casos, as alterações macroscópicas, quando presentes, consistem de hemorragias focais (Cantile et al., 2001; Bunnings et al., 2004) e exsudato com fibrina sub-dural no encéfalo e medula espinhal (Bunnings et al., 2004). Histologicamente há encefalomyelite não-supurativa, hemorragias e microgliose multifocal localizadas principalmente na substância cinzenta da medula espinhal e do tronco encefálico. Nos casos mais acentuados, degeneração neuronal, neuronofagia e esferóides axonais também podem ocorrer (Ostlund et al., 2000; Cantile et al., 2001; Bowen, 2002; Bunnings et al., 2004; Saville 2004).

Casos de raiva apresentam 100% de letalidade, têm curso agudo ou subagudo; os eqüinos geralmente desenvolvem a forma furiosa da doença e podem se tornar extremamente agressivos (Swanepoel, 2004). As lesões macroscópicas consistem de edema no encéfalo, congestão meníngea e pequenos focos hemorrágicos, principalmente na medula espinhal (O'Toole et al., 1993). As alterações histológicas consistem de meningoencefalite não-supurativa, degeneração neuronal, neuronofagia e gliose muitas vezes associadas a corpúsculos de inclusão eosinofílicos intracitoplasmáticos (Green et al., 1992; Green, 1997;

Perl & Good, 2000; Swanepoel, 2004). Nos casos deste estudo houve recuperação clínica, muitos dos equínos apresentavam uma doença crônica e agressividade não foi observada.

Os sinais clínicos observados na doença de Borna e na encefalite japonesa são similares aos observados nas outras encefalites virais. Em ambos os casos, geralmente não se observam alterações macroscópicas no encéfalo. Histologicamente a doença de Borna caracteriza-se por polioencefalomielite não-supurativa localizada na neurópila ou no espaço de Virchow-Robin. Nos neurônios, e eventualmente nas células da glia, corpúsculos de inclusão eosinofílicos intranucleares e, menos freqüentemente, intracitoplasmáticos, (corpúsculos de Joest-Degen) podem ocorrer e são considerados patognomônicos para a doença de Borna (Richt et al., 2000; Bertone, 2004; Rott et al., 2004). Na encefalite japonesa há encefalomielite não-supurativa difusa com destruição fagocítica dos neurônios e gliose focal (Bertone 2004; Ellis et al., 2004). Não há relatos dessas duas enfermidades no Brasil.

Equínos afetados por leucoencefalomalacia, doença causada pela ingestão do milho contaminado por fumonisina B1, micotoxina produzida pelo fungo *Fusarium moniliforme*, apresentam sinais clínicos e lesões macroscópicas de edema e malacia unilaterais ou bilaterais que podem ser confundidos com as lesões observadas macroscopicamente na tripanossomíase. Em geral, a leucoencefalomalacia ocorre nos meses de inverno, as lesões macroscópicas são mais acentuadas, geralmente liquefativas, e as alterações histológicas caracterizam-se por malacia, edema e hemorragia na neurópila, com mínima inflamação (Barros et al., 1984; Uhlinger, 1997; Méndez & Riet-Correa, 2001).

Os casos de mieloencefalopatia degenerativa equína geralmente ocorrem em animais jovens, com menos de um ano de idade. Os sinais clínicos cursam com déficits proprioceptivos e incluem ataxia simétrica, fraqueza, espasticidade de todos os membros e incapacidade de andar em círculos e de retroceder. Lesões macroscópicas geralmente não são observadas e histologicamente as lesões são de distrofia neuraxonal, caracterizadas por edema axonal e dendrítico, proliferação glial leve, perda de mielina, formação de esferóides axonais e atrofia e diminuição no número de neurônios com acúmulo de pigmento semelhante à lipofuscina. Tais alterações ocorrem principalmente no tronco encefálico e medula espinhal (Miller & Collatos, 1997; Mathews & Nout, 2004).

Em nenhuma das doenças discutidas no diferencial se observa uma encefalite tão intensa e difusa associada a desmielinização e necrose e com presença consistente de células de Mott no infiltrado celular como é o caso da tripanossomíase equína. Nos casos do presente estudo, a associação do agente etiológico (demonstrado através da IHQ) com as lesões encefálicas é uma prova irrefutável de que essas são causadas por *T. evansi*. É provável que essas alterações

no SNC em animais infectados com *T. evansi* sejam muito mais comuns do que é relatado na literatura, porém, como essa é uma doença de fácil diagnóstico através do esfregaço sangüíneo, em poucos casos o diagnóstico é confirmado por necropsia. As alterações observadas no encéfalo de eqüinos infectados com *T. evansi* demonstram que essa enfermidade guarda grande semelhança com o que é descrito para a forma nervosa das tripanossomíases africanas que ocorrem em pessoas e animais.

## 6 CONCLUSÕES

- A doença que vitimou dezenas de eqüinos no Rio Grande do Sul entre 2003 e 2006 tratava-se de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi*.
- A doença neurológica do sistema nervoso central caracterizada por encefalite grave semelhante à que ocorre na *nagana* e na *doença do sono*, observada em eqüinos no Rio Grande do Sul é causada por *Trypanosoma evansi*.
- Nos casos da doença neurológica do sistema nervoso central causada por *Trypanosoma evansi*, os tripomastigotas podem ser encontrados na neurópila e demonstrados por imunistoquímica.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKOL, G.W.O.; MURRAY, M. Early events following challenge of cattle with tsetse infected with *Trypanosoma congolense*: Development of the local skin reaction. **Veterinary Record**, v. 110, p. 295-302, 1982.

ALLEN, G.P. et al. Equid herpesvirus 1 and 4 infections. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v. 2. cap. 92, p. 1014-1022.

ANOSA, V.O.; KANEKO, J.J. Pathogenesis of *Trypanosoma brucei* infection in deer mice (*Peromyscus maniculatus*): light and electron microscopic studies on erythrocyte pathologic changes and phagocytosis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, n. 4, p. 645-651, 1983.

AQUINO, L.P.C.T. et al. Clinical, parasitological and immunological aspects of experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 255-260, 1999.

AQUINO L.P.C.T. et al. Hematological, biochemical and anatomopathological aspects of the experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, p. 8-18, 2002.

ASTER, J.C. Red blood cell and bleeding disorders. In: KUMAR V., ABBAS A.K. & FAUSTO N. (Eds.). **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease**. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005a. p.619-659

ASTER, J.C. Diseases of white blood cells, lymph nodes, spleen, and thymus. In: KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. (Eds.). **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease**. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005b. p.661-709.

BAIN, B.J. **Células Sangüíneas: Um Guia Prático**. 2. ed. Porto Alegre: ArtMed, 1997. 334p.

BARKER, R.N.. Anemia associated with immune responses. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. (Eds.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.169-177

BARRIGA, O.O. The class mastigophora or flagellates. In: \_\_\_\_\_. **Veterinary parasitology for practioners**. 2nd ed. Minnessota: Burgers International Group, 1997. cap. 25, p. 25.1-25.12.

BARROS, C.S.L. et al. Leucoencefalomalacia em eqüinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 4, p. 101-107, 1984.

BARROS, C.S.L. et al. Mieloencefalite eqüina por protozoário. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 6, n. 2, p. 45-49, 1986.

BATISTA, J.S. et al. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 31-37, 2006.

BERTONE, J.J. Togaviral encephalitis. In: REED, S.; BAYLY, W.M.; SELTON D.C. (Eds.). **Equine Internal Medicine**. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004. cap. 10.13, p. 631-640.

BISWAS, D.; CHOUDHURY, A.; MISRA, K.K. Histopathology of *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* infection in bandicoot rat. I. Visceral organs. **Experimental Parasitology**, v. 99, n. 3, p. 148-159, 2001.

BOID, R. et al. Serum immunoglobulins levels and eletrophoretic patterns of serum proteins in camels infected with *Trypanosoma evansi*. **Veterinary Parasitology**, v. 6, p. 333-334, 1980.

BOWEN, R. West Nile meningoencephalitis. In: SMITH, B.P. (Ed.). **Large Animal Internal Medicine**. 3rd ed. St. Louis: Mosby, 2002. p.890-891

BRUN, R.; HECKER, H.; LUN, Z. *Trypanosoma evansi* and *T. equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship (a review). **Veterinary Parasitology**, v. 79, p. 95-107, 1998.



BUNNINGS, M.L.; WILSON, T.M.; BOWEN, R.A. West Nile virus infection. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v. 2. cap. 91, p. 1004-1011.

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

CAMARGO, R.E.; UZCANGA, G.L.; BUBIS, J. Isolation of two antigens from *Trypanosoma evansi* that are partially responsible for its cross-reactivity with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 67-81, 2004.

CANTILE, C. et al. Pathologic and Immunohistochemical findings in naturally occurring West Nile virus infection in horses. **Veterinary Pathology**, v. 38, p. 414-421, 2001.

COLPO, C.B. et al. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cães. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 717-719, 2005.

CONNOR, R.J.; VAN DEN BOOSCHE, P. African animal trypanosomoses. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v. 1. cap. 12, p. 251-296.

CONRADO, A.C. et al. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cavalos na região central do Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 35, p. 928-931, 2005.

COUTO C.G. Hiperproteinemia. In: NELSON R.W. & COUTO C.G. (Eds.). **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. p. 953-957.

DAMAYANTI, R.; GRAYDON, R.J.; LADDS, P.W. The pathology of experimental *Trypanosoma evansi* infection in the Indonesian buffalo (*Bubalus bubalis*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 110, n. 3, p. 237-52, 1994.

DARGANTES, A.P. et al. Experimental *Trypanosoma evansi* infection in the goat. II. Pathology. **Journal of Comparative Pathology**, v. 133, n. 4, p. 267-276, 2005.

DÁVILA, A.M.R. et al. The seroprevalence of equine trypanosomiasis in the Pantanal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 199-202, 1999.

DÁVILA, A.M.R.; SILVA, R.A.M.S. Animal trypanosomiasis in South America. Current Status, Partnership, and Information Technology. **Annual New York Academy of Science**, v. 916, p. 199-212, 2000.

DAY, M.J. Immune-mediated hemolytic anemia,. In: FELDMAN B.F., ZINKL J.G.; JAIN N.C. (Eds.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 799-806.

DELAFOSSÉ, A.; DOUTOUM, A.A. Prevalence of *Trypanosoma evansi* infection and associated risk factors in camels in eastern Chad. **Veterinary Parasitology**, v. 119, n. 2-3, p. 155-164, 2004.

DEL PIERO, F. et al. Clinical, pathological, immunohistochemical, and virologic findings of Eastern equine encephalomyelitis in two horses. **Veterinary Pathology**, v. 38, p. 451-456, 2001.

DUBEY, J.P. et al. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). **Veterinary Parasitology**, v. 95, p. 89-131, 2001.

DUBEY, J.P. Equine protozoal myeloencephalitis. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v.1. cap.24, p.394-403.

DUMAS, M.; BOUTEILLE, B. Human African trypanosomiasis. **Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et des ses Filiales**, v. 190, n. 4, p. 395-408, 1996.

ELLIS, P.M.; DANIELS, P.W.; BANKS, D.J. Japanese encephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 16, n. 3, p. 565-578, 2000.

EMERIBE, A.O.; ANOSA, V.O. Hematology of experimental *Trypanosoma brucei gambiense* infection. II. Erythrocyte and leucocyte changes. **Revue d Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux**, v. 44, n. 1, p. 53-57, 1991.

FIGUEIREDO, L.T.M. et al. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 613-619, 1999.

FINOL, H.J. et al. Skeletal muscle ultrastructural pathology in mice infected with *Trypanosoma evansi*. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v. 33, p. 65-71, 2001.

FRANKE, C.R.; GREINER, M.; MEHLITZ, D. Investigations on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Pantanal de Pocone (Mato Grosso, Brazil). **Acta Tropica**, v. 58, p. 159-169, 1994.

FRANKLIN, R.P. et al. Eastern equine encephalomyelitis virus infection in a horse from California. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 283-288, 2002.

FRAZER, H.; SYMONDS, S.L. Surra in federated Malay states. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 22, p. 185-192, 1909.

GIBBS, E.P.J. Equine encephalitides caused by alphaviruses. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v. 2. cap. 92, p. 1014-1022.

GIBSON, W. African trypanosomosis. In: PALMER, S.R., SOULSBY, L., SIMPSON, D.I.H. **Zoonoses. Biology, clinical practice, and public health control**. New York: Oxford University Press, 1998, cap. 41, p. 501-512.

GIRARD, M. et al. In vitro induction of microglial and endothelial cell apoptosis by cerebrospinal fluids from patients with human African trypanosomiasis. **International Journal for Parasitology**, v. 33, p. 713-720, 2003.

GOODWIN, L.G. The pathology of African trypanosomiasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, p. 797-812, 1970.

GRAB, D.J. et al. African trypanosome interactions with an in vitro model of the human blood-brain barrier. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 1, p. 970-979, 2004.

GREEN, S.L. Rabies. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 13, n. 1, p. 1-11, 1997.

GREEN, S.L. et al. Rabies in horses: 21 cases (1970-1990). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 200, p. 1133-1137, 1992.

HARVEY, J.W. **Atlas of Veterinary Hematology** - Blood and Bone Marrow of Domestic Animals. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001. 228p.

HERRERA, H.M. et al. *Trypanosoma evansi* experimental infection in South american coati (*Nasua nasua*): clinical, parasitological and humoral immune response. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 209-216, 2001.

HERRERA, H.M. et al. Experimental *Trypanosoma evansi* infection in South american coati (*Nasua nasua*): hematological, biochemical and histopathological changes. **Acta Tropica**, v. 81, p. 203-210, 2002.

HERRERA, H.M. et al. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 125, p. 263-275, 2004.

HOARE, C.A. **The Trypanosomes of Mammals: A Zoological Monograph**. Oxford: Blackwell, 1972. 749p.

INDRUSIAK, C.; EIZIRIK, E. Carnívoros. In: FONTANA, C.S.; BENCKE, G.A.; REIS R.E. (Eds.). **Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: ED/PUCRS. 2003. p.507-534.

JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1921p.

JAKTAR, P.R.; GHOSAL, A.K.; SINGH, M. Pathogenesis of anemia in *Trypanosoma evansi* infection. III. Studies on serum proteins. **Indian Veterinary Journal**, v. 50, p. 634-636, 1973.

JENKINS, G.C.; FACER, C.A. Hematology of African trypanosomiasis. In: TIZARD, I. (Ed.). **Immunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis**. Boca Raton: CRC Press, 1985. p.13-44.

JENNINGS, F.W.; GRAY, G.D. Relapsed parasitaemias following chemotherapy of chronic *Trypanosoma brucei* infections in mice and its relation to cerebral trypanosomiasis. **Contributions to Microbiology and Immunology**, v. 7, p. 147-154, 1983.

JOHNSTON, J.K.; MORRIS, D.D. Alterações nas proteínas do sangue. In: SMITH, B.P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Editora Manole, 1993. v. 1. cap. 26, p. 447-456.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. Moléstias causadas por protozoários. In: \_\_\_\_\_. **Patologia Veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. cap. 12, p. 559-610.

KEITA, M. et al. *Trypanosoma brucei brucei*: a long-term model of human African trypanosomiasis in mice, meningo-encephalitis, astrocytosis, and neurological disorders. **Experimental Parasitology**, v. 85, p. 183-192, 1997.

KENNEDY, P.G.E. et al. A substance P antagonist, RP-67,580, ameliorates a mouse meningoencephalitic response to *Trypanosoma brucei brucei*. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 94, p. 4167-4170, 1997.

KOHN, C.; FENNER, W.R. Equine herpes myeloencephalopathy. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 3, n. 2, p. 405-419, 1987.

LAMBERT, P.H.; BERNEY, M.; KAZYUMBA, G. Immune complexes in serum and in cerebrospinal fluid in African trypanosomiasis. Correlation with polyclonal B cell activation and with intracerebral immunoglobulin synthesis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 67, p. 77-85, 1981.

LANGLEY, P.A. Understanding tsetse flies. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 61, p. 361-367, 1994.

LEMONS K.R. **Resposta imune celular e alterações histopatológicas no sistema nervoso central de eqüinos infectados experimentalmente com *Trypanosoma evansi* Steel, 1885** (Sarcomastigophora: Trypanosomatidae). 2003. 85f. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

LEVINE, N.D. **Protozoan parasites of Domestic Animals and of Man**. 2nd ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1973. 406p.

LONSDALE-ECCLES, J. D.; GRAB, D.J. Trypanosome hydrolases and the blood-brain barrier. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 1, 2002.

LOSOS, G.J.; IKEDE, B.D. Review of pathology of diseases of domestic and laboratory animals caused by *Trypanosoma congolense*, *T. vivax*, *T. brucei*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. **Veterinary Pathology**, v. 9 (Suppl.), p. 1-71, 1972.

LUCAS, S. Pathology of tropical infections. In: MCGEE, J.O.D.; ISAACSON, P.G.; WRIGHT, N.A. **Oxford textbook of pathology**. New York: Oxford University Press, 1992. v. 2b. cap. 29, p. 2187-2265.

LUCKINS, A.G. et al. Dourine. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v.1. cap. 13, p. 297-304.

MCADAM, A.J.; SHARPE, A.H. Infectious diseases. In: Kumar V., Abbas A.K.; Fausto N. (Eds.). **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease**. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. p. 343-468

MACKAY, R.J. et al. Equine protozoal myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 16, n. 3, p. 405-425, 2000.

MADIGAN, J.E.; HIGGINS, R.J. Equine protozoan myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 3, p. 397-404, 1989.

MARQUES, L.C. et al. Experimental infection with *Trypanosoma evansi* in horses: clinical and haematological observations. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, p. 11-15, 2000.

MASOCHA, W. et al. Cerebral vessel laminins and IFN- $\gamma$  define *Trypanosoma brucei brucei* penetration of blood-brain barrier. **Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 5, p. 689-694, 2004.

MATHEWS, H.K.; NOUT, Y.S. Equine Degenerative myeloencephalopathy. In: REED, S., BAYLY, W.M.; SELLON, D.C. (Eds.). **Equine Internal Medicine**. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004. cap. 10.9, p. 599-604.

MCCULLY, R.M.; NEITZ, W.O. Clinicopathological study of experimental *Trypanosoma brucei* infections in horse. 2. Histopathological findings in nervous system and other organs of treated and untreated horses reacting to Nagana. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, p. 141-175, 1971.

MÉNDEZ, M.D.C.; RIET CORREA, F. Intoxicações por plantas e micotoxinas. In: RIET-CORREA, F. et al. (Eds.). **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. v. 2. cap.3, p.219-299.

MHLANGA, J.D.M.; BENTIVOGLIO, M.; KRISTENSSON, K. Neurobiology of cerebral malaria and African sleeping sickness. **Brain Research Bulletin**, v. 44, n. 5, p. 579-589, 1997.

MILLER, M.M.; COLLATOS, C. Equine degenerative myeloencephalopathy. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 13, n. 1, p. 43-52, 1997.

MONZON, C.M.; MANCEBO, O.A.; ROUX, J.P. Comparison between six parasitological methods for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in the subtropical area of Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 36, p. 141-146, 1990.

MONZON, C.M. et al. Estudos hematológicos en cobaios y eqüinos infectados com el *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885). **Veterinaria Argentina**, v. 8, p. 668-676, 1991.

MORAES, C.M. et al. Tripanossomose Mal das cadeiras em eqüinos no Rio Grande do Sul: relato de caso. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 16. 2005, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: [s.n.], 2005. 1 CD-ROM.

MORALES, G.A.; WELLS, E.A.; ANGELS, D. The capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) as a reservoir host for *Trypanosoma evansi*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 12, p. 572-574, 1976.

MOULTON, J.E. Relapse after chemotherapy in goats experimentally infected with *Trypanosoma brucei*: pathological changes in central nervous system. **Veterinary Pathology**, v. 23, p. 21-28, 1986.

MUÑOZ, K.; CHÁVEZ, A. *Trypanosoma evansi* isolated from capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 945-946, 2001.

NEITZ, W.O.; MCCULLY, R.M. Clinicopathological study of experimental *Trypanosoma brucei* infections in horses. 1. Development of clinical recognizable nervous symptoms in Nagana-infected horses treated with subcurative doses of Antrypol and berenil. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 38, p. 127-140, 1971.

NUNES, V.L.B.; OSHIRO, E.T. *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* in the coati from the Pantanal region of Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, p. 692, 1990.

NUNES, V.L.B. et al. Investigação epidemiológica sobre *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* no Pantanal Sul-Mato-Grossense. Estudo de reservatórios. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 2, p. 41-44, 1993.

OLAHO-MUKANI, W. et al. Comparison of antibody and antigen-detection enzyme immunoassays for the diagnosis of *Trypanosoma evansi* infection in camels. **Veterinary Parasitology**, v. 45, p. 231-240, 1993.

OSTLUND, E.N. et al. West Nile encephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 16, n. 3, p. 427-441, 2000.

O'TOOLE, D. et al. Polyomyelomalacia and ganglioneuritis in a horse with paralytic rabies. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, p. 94-97, 1993.

OUWE-MISSI-OUKEM-BOYER, O. et al. The vervet monkey (*Chlorocebus aethiops*) as an experimental model for *Trypanosoma brucei gambiense* human African trypanosomiasis: a clinical, biological and pathological study. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, n. 5, p. 427-436, 2006.

PENTREATH, V.W.; BAUGH, P.J.; LAVIN, D.R. Sleeping sickness and the central nervous system. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 4, p. 369-377, 1994.

PEPIN, J. et al. Risk factors for encephalopathy and mortality during melarsoprol treatment of *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, n. 1, p. 92-97, 1995.

PEREGRINE, A. S.; MAMMAN, M. Pharmacology of Dimmenazene: a review. **Acta Tropica**, v. 54, p. 185-203, 1993.

PERL, D.P.; GOOD, P.F. The pathology of rabies in the central nervous system. In: Bauer G.M. **The Natural History of Rabies**. Boca Raton: CRC, 1991. p. 163-190.

PHILIP, K.A. et al. Blood-brain barrier damage in experimental African trypanosomiasis. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 88, p. 607-616, 1994.

POLTERA, A.A.; OWOE, R.; COX, J.N. Pathological aspects of human African trypanosomiasis (HAT) in Uganda: A post-mortem-survey of fourteen cases. **Virchows Archive of Pathologic and Anatomic Histology**, v. 373, p. 249-265, 1977.



POWAR, R.M. et al. A rare case of human trypanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi*. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 72-74, 2006.

QUIÑONES MATEU, M.E.; FINOL, H.J.; TORRES, S.H. Muscular changes in Venezuelan wild horses infected with *Trypanosoma evansi*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 110, n. 1, p. 79-89, 1994.

RADOSTITS, O.M. et al. Doenças virais caracterizadas por sinais nervosos. In: \_\_\_\_\_. **Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002a. p. 1069-1113.

RADOSTITS, O.M. et al. Doenças causadas pelos protozoários. In: \_\_\_\_\_. **Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002b. p. 1156-1202.

RICHT, J.A.; GRABNER, A.; HERZOG, S. Borna disease in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 16, n. 3, p. 579-95, 2000.

RICO-HESSE, R. Venezuelan equine encephalomyelitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 16, n. 1, p. 553-563, 2000.

RIET-CORREA, F. et al. Tripanossomíase em bovinos. **Semi-Árido em Foco**, Patos/PB, v. 1, p. 49-52, 2003.

ROTT, R.; HERZOG, S.; RICHT, J.A. Borna disease. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. (Eds.). **Infectious diseases of livestock**. 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v. 2. cap. 126, p. 1368-1372.

RUE, M.L. et al. Leucocyte and reticulocytes counts in acute infection of dogs with *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) Balbiani, 1888. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, v. 42, p. 163-166, 2000.

SAVILLE, W.J.; GRANSTROM, D.E. Equine protozoal myeloencephalitis. In: REED, S.; BAYLY, W.M.; SELLON, D.C. (Eds.). **Equine Internal Medicine**. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004. cap.10.10, p.604-617.

SAVILLE, W.J. West Nile encephalitis. In: REED, S.; BAYLY, W.M.; SELLON, D.C. (Eds.). **Equine Internal Medicine**. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004. cap.10.14, p.640-644.

SCHLIPF, J. Equine herpesvirus myeloencephalopathy. In: SMITH, B.P. (Ed.). **Large Animal Internal Medicine**. 3rd ed. St. Louis: Mosby, 2002. p.885-886.

SCHULTZBERG, M. et al. Spread of *Trypanosoma brucei* to the nervous system: early attack on circumventricular organs and sensory ganglia. **Journal of Neuroscience Research**, v. 21, n. 1, p. 56-61, 1988.

SCHWARTZ, D. et al. Doenças infecciosas e parasitárias. In: RUBIN, E. et al. Rubin, **Patologia: bases clinicopatológicas da medicina**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 9, p. 365-481.

SEILER, R.J.; OMAR, S.; JACKSON, A.R.B. Meningoencephalitis in naturally occurring *Trypanosoma evansi* infection (Surra) of horses. **Veterinary Pathology**, v. 18, n. 1, p. 120-122, 1981.

SILVA, R.A.M.S. et al. Outbreak of trypanosomosis due to *Trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-grossense, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 60, p. 167-171, 1995a.

SILVA, R.A.M.S. et al. Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and horses: hematological and clinical aspects. **Ciência Rural**, v. 25, n. 2, p. 233-238, 1995b.

SILVA, R.A.M.S. et al. Hematology of natural bovine trypanosomiasis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 87-93, 1999.

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. **Profilaxia e Controle do Mal de Cadeiras em Animais Domésticos no Pantanal**. Corumbá: Embrapa Pantanal, n. 66, 2004. 23p.

SINGH, N. et al. A comparative evaluation of parasitological, serological and DNA amplification methods for diagnosis of natural *Trypanosoma evansi* infection in camels. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 365-373, 2004.

STERNBERG, J.M. et al. Meningoencephalitic African trypanosomiasis: Brain IL-10 and IL-6 are associated with protection from neuro-inflammatory pathology. **Journal of Immunology**, v. 167, p. 81-89, 2005.

STEVENS, J.R. et al. Isoenzyme characterization of *Trypanosoma evansi* isolated from capybaras and dogs in Brazil. **Acta Tropica**, v. 46, p. 213-222, 1989.

SUDARTO, M.W.; TABEL, H.; HAINES, D.M. Immunohistochemical demonstration of *Trypanosoma evansi* in tissues of experimentally infected rats and a naturally infected water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Journal of Parasitology**, v. 76, n. 2, p. 162-167, 1990.

SWANEPOEL, R. Rabies. In: COETZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. **Infectious diseases of livestock**. (Eds.). 2nd ed. South Africa: Oxford University Press, 2004. v. 2. cap. 99, p. 1123-1182.

TUNTASUVAN, D. et al. Detection of *Trypanosoma evansi* in brains of the naturally infected hog deer by streptavidine-biotin immunohistochemistry. **Veterinary Parasitology**, v. 87, n. 2-3, p. 223-230, 2000.

TUNTASUVAN, D. et al. Chemotherapy of surra in horses and mules with diminazene aceturate. **Veterinary Parasitology**, v. 110, p. 227-233, 2003a.

TUNTASUVAN, D. et al. Efficacy of diminazene aceturate on the treatment of Trypanosomosis in pigs. **Journal of the Thailand Veterinary Medical Association**, v. 54, n. 1-2, p. 49-56, 2003b.

TUNTASUVAN, D.; LUCKINS, A.G. Status of Surra in Thailand. **Journal of the Tropical Medicine and Parasitology**, v. 21, n. 2, p. 1-8, 1998.

TUNTASUVAN, D.; SARATAPHAN, N.; NISHIKAWA, H. Cerebral trypanosomiasis in native cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 73, n. 3-4, p. 357-363, 1997.

UHLINGER, C. Leukoencephalomalacia. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 13, n. 1, p. 13-20, 1997.

URQUHART, G.M. et al. Veterinary protozoology. In: \_\_\_\_\_. **Veterinary Parasitology**. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science, 1996. p. 207-255.

VENTURA, R.M. et al. Molecular and morphological studies of Brazilian *Trypanosoma evansi* stocks: the total absence of kDNA in trypanosomes from both laboratory stocks and naturally infected domestic and wild mammals. **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 6, p. 1289-1298, 2000.

WILSON, W.D. Equine herpesvirus 1 myeloencephalopathy. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 13, n. 1, p. 53-72, 1997.

WOODRUFF, A.W. Mechanisms involved in anemia associated with infections and splenomegaly in the tropics. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, p. 313-328, 1973.

## **8 APÊNDICES**

APÊNDICE 1 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Eqüino 7 (Vn256-03)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	1 <sup>n</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Ponte	2	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0
3-Mesencéfalo	2	1	0	1	1	0	0	0	0	0	2	0
4-Tálamo	3	2	3	2	3	0	2	0	0	0	2	0
5-Cerebelo	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
6-Córtex occipital	2	2	1	0	2	1	1	1	0	0	2	0
7-Córtex parietal	2	2	1	0	2	0	2	1	0	0	1	1
8-Córtex frontal	2	1	1	0	1	0	1	2	0	0	2	0
9-Hipocampo	3	2	1	0	2	0	2	1	0	0	2	0
10-Núcleos da base	3	2	2	2	3	0	3	3	0	2	2	2
11-Medula cervical	n/e <sup>o</sup>	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e
12-Medula torácica	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e
13-Medula lombar	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado; <sup>o</sup>não examinado.

APÊNDICE 2 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Equino 8 (Vn283-03)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	2 <sup>n</sup>	2	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
2-Ponte	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
3-Mesencéfalo	2	1	1	2	0	0	1	0	0	0	1	0
4-Tálamo	2	2	2	2	0	0	1	0	0	0	2	0
5-Cerebelo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6-Córtex occipital	3	3	3	1	0	0	2	2	0	0	2	0
7-Córtex parietal	3	2	3	1	0	0	3	2	0	0	2	1
8-Córtex frontal	3	3	3	1	1	0	3	3	0	1	1	1
9-Hipocampo	2	2	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
10-Núcleos da base	3	3	2	1	0	0	3	1	0	0	1	0
11-Medula cervical	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
12-Medula torácica	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
13-Medula lombar	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado.

APÊNDICE 3 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Equino 14 (LRD4358)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	0 <sup>n</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Ponte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-Mesencéfalo	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
4-Tálamo	1	1	0	1	2	0	3	1	0	1	0	0
5-Cerebelo	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
6-Córtex occipital	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	2
7-Córtex parietal	3	2	3	2	3	2	3	2	1	3	3	3
8-Córtex frontal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9-Hipocampo	3	1	2	1	2	0	2	1	0	1	0	0
10-Núcleos da base	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
11-Medula cervical	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12-Medula torácica	n/e <sup>o</sup>	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e
13-Medula lombar	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado; <sup>o</sup>não examinado.



APÊNDICE 4 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Equino 16 (Vn163-04)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	1 <sup>n</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
2-Ponte	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
3-Mesencéfalo	2	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
4-Tálamo	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	3	0
5-Cerebelo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6-Córtex occipital	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	2	0
7-Córtex parietal	2	1	0	1	2	0	1	2	0	0	3	0
8-Córtex frontal	2	1	0	1	1	0	0	1	0	0	2	1
9-Hipocampo	2	2	0	1	1	0	0	1	0	0	2	0
10-Núcleos da base	3	1	2	1	1	0	0	0	0	0	2	0
11-Medula cervical	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
12-Medula torácica	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
13-Medula lombar	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado.

APÊNDICE 5 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Equino 17 (Vn263-04)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	2 <sup>n</sup>	0	2	0	2	0	2	2	0	0	1	0
2-Ponte	2	1	2	0	2	0	2	1	0	0	1	0
3-Mesencéfalo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-Tálamo	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
5-Cerebelo	3	1	3	3	3	0	3	3	1	3	2	0
6-Córtex occipital	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
7-Córtex parietal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
8-Córtex frontal	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
9-Hipocampo	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
10-Núcleos da base	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
11-Medula cervical	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
12-Medula torácica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13-Medula lombar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado.

APÊNDICE 6 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Equino 18 (Vn327-04)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	1 <sup>n</sup>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
2-Ponte	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
3-Mesencéfalo	3	2	3	2	2	0	3	2	1	0	1	0
4-Tálamo	1	1	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0
5-Cerebelo	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
6-Córtex occipital	2	1	1	0	1	0	2	1	0	0	1	2
7-Córtex parietal	2	0	1	0	2	0	0	2	0	0	1	0
8-Córtex frontal	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
9-Hipocampo	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
10-Núcleos da base	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0
11-Medula cervical	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
12-Medula torácica	n/e <sup>o</sup>	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e
13-Medula lombar	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado; <sup>o</sup>não examinado.

APÊNDICE 7 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Equino 19 (V908-04)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	0 <sup>n</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Ponte	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-Mesencéfalo	2	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
4-Tálamo	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
5-Cerebelo	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
6-Córtex occipital	2	1	0	1	2	0	1	1	0	2	1	0
7-Córtex parietal	3	2	0	2	3	0	3	1	1	3	3	1
8-Córtex frontal	3	2	0	1	3	0	2	2	0	2	1	0
9-Hipocampo	2	2	0	1	2	0	1	1	0	0	0	0
10-Núcleos da base	3	2	0	1	3	0	3	0	0	1	0	0
11-Medula cervical	n/e <sup>o</sup>	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e
12-Medula torácica	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e
13-Medula lombar	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado; <sup>o</sup>não examinado.

APÊNDICE 8 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Equino 22 (Vn330-05)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	0 <sup>n</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Ponte	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3-Mesencéfalo	2	0	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0
4-Tálamo	3	2	3	1	2	1	3	1	1	2	1	1
5-Cerebelo	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0
6-Córtex occipital	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	2
7-Córtex parietal	3	2	2	0	2	0	3	1	2	3	1	3
8-Córtex frontal	1	1	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0
9-Hipocampo	1	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
10-Núcleos da base	3	2	3	0	3	1	3	2	2	3	1	3
11-Medula cervical	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12-Medula torácica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13-Medula lombar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado.

APÊNDICE 9 – Localização e intensidade das alterações histopatológicas no sistema nervoso central de equino afetado por *Trypanosoma evansi*.

Equino 23 (V213-06)												
Alterações												
Seção	Int <sup>a</sup>	Mott <sup>b</sup>	GD <sup>c</sup>	GF <sup>d</sup>	TNCE <sup>e</sup>	Hem <sup>f</sup>	EN <sup>g</sup>	Men <sup>h</sup>	Mal <sup>i</sup>	EA <sup>k</sup>	Hems <sup>l</sup>	Ast II <sup>m</sup>
1-Óbex	2 <sup>n</sup>	2	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0
2-Ponte	2	3	0	1	0	0	2	1	0	0	0	0
3-Mesencéfalo	2	3	0	1	0	1	2	0	0	0	2	0
4-Tálamo	3	3	2	2	0	1	2	1	0	0	2	0
5-Cerebelo	1	2	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
6-Córtex occipital	3	2	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0
7-Córtex parietal	3	3	3	2	1	0	3	2	1	0	3	0
8-Córtex frontal	3	3	3	3	1	0	3	2	1	0	2	0
9-Hipocampo	3	3	2	2	1	0	3	2	0	0	2	0
10-Núcleos da base	3	3	3	3	1	2	3	3	2	0	3	0
11-Medula cervical	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
12-Medula torácica	n/e <sup>o</sup>	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e
13-Medula lombar	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e	n/e

<sup>a</sup>intensidade do infiltrado inflamatório; <sup>b</sup>células Mott; <sup>c</sup>gliose difusa; <sup>d</sup>gliose focal; <sup>e</sup>tumefação dos núcleos das células endoteliais; <sup>f</sup>hemorragia; <sup>g</sup>edema da neurópila; <sup>h</sup>meningite; <sup>i</sup>malacia; <sup>k</sup>esferóides axonais; <sup>l</sup>hemossiderose; <sup>m</sup>Astrócitos tipo II; <sup>n</sup>0 ausente, 1 leve, 2 moderado, 3 acentuado; <sup>o</sup>não examinado.



















