

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

**EFICÁCIA DE TRÊS MEDICAMENTOS NO
CONTROLE DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR
TRYPANOSOMA EVANSI EM RATOS (*RATTUS
NORVEGICUS*) LINHAGEM WISTAR**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Rovaina Laureano Doyle

**Santa Maria, RS, Brasil
2006**

**EFICÁCIA DE TRÊS MEDICAMENTOS NO
CONTROLE DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR
TRYPANOSOMA EVANSI EM RATOS (*RATTUS
NORVEGICUS*) LINHAGEM WISTAR**

Por

Rovaina Laureano Doyle

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária.**

Orientador: Prof^a. Sílvia González Monteiro

Santa Maria, RS

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

**EFICÁCIA DE TRÊS MEDICAMENTOS NO CONTROLE DA
INFECCÃO EXPERIMENTAL POR *TRYPANOSOMA EVANSIEM*
RATOS (*RATTUS NORVEGICUS*) LINHAGEM WISTAR**

elaborada por
Rovaina Laureano Doyle

Como requisito parcial para obtenção de grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA

Dra. Sílvia González Monteiro
(Presidente/Orientador)

Dra. Sonia Teresinha dos Anjos Lopes (UFSM)

Dra. Eliane Maria Zanchet (UFSM)

Santa Maria, 15 de março de 2006.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação ao meu pai, Dr. Leônidas Umpierre Doyle, grande incentivador do hábito da pesquisa desde minha infância, com certeza a “pedra fundamental” deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a toda a equipe de 2005 do Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, pelo grande apoio que, certamente, foi imprescindível à execução deste experimento.

Aos meus orientadores, professora Sílvia G. Monteiro, professora Dominguita L, Graça e professor Jânio M. Santurio, pela paciência e disposição sempre despendidas.

E à minha família e amigos, pela compreensão e paciência, também indispensáveis a este trabalho.

Com certeza nada foi em vão, muito obrigada.

SUMÁRIO

Resumo	10
Abstract.....	11
Introdução	12
Capítulo 1 - Revisão bibliográfica.....	13
Capítulo 2 – Eficácia de três medicamentos no controle da infecção experimental por <i>Trypanosoma evansi</i> em ratos (<i>Rattus norvegicus</i>) linhagem Wistar	22
Resumo	22
Abstract.....	23
Introdução	23
Material e Métodos	26
Resultados e Discussão.....	28
Conclusão	30
Bibliografia	31
Referências bibliográficas	37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Média das avaliações dos diferentes tratamentos em machos e fêmeas de ratos experimentalmente infectados por <i>T. evansi</i> quanto ao período pré-patente e de sobrevivência dos animais a partir do tratamento.	35
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Variação hemoparasitária durante o tratamento com aceturato de diminazeno em infecção experimental por <i>T. evansi</i> em ratos Wistar.....	36
--	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Representação gráfica das características morfológicas de <i>T. evansi</i>	14
FIGURA 2 – Representação gráfica da fórmula do acetato de diminazeno	19
FIGURA 3 – Representação gráfica da fórmula da oxitetraciclina	20
FIGURA 4 – Representação gráfica da fórmula do benzonidazol	20

RESUMO

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

EFICÁCIA DE TRÊS MEDICAMENTOS NO CONTROLE DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *TRYPANOSOMA EVANSI* EM RATOS (*RATTUS NORVEGICUS*) LINHAGEM WISTAR

AUTORA: ROVAINA LAUREANO DOYLE

ORIENTADORA: SÍLVIA GONZÁLEZ MONTEIRO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 15 de março de 2006.

Este trabalho objetivou verificar os achados laboratoriais e histológicos da infecção experimental por *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* (Steel, 1885) Balbiani, 1888, em ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, testando a eficácia de três medicamentos. Foram utilizados 40 ratos, divididos em quatro grupos de 10 cada, sendo cada grupo composto por 5 machos e cinco fêmeas, os quais foram tratados com três quimioterápicos distintos após a detecção de parasitemia superior a oito tripomastigotas por campo visual do esfregaço sanguíneo ao microscópio de luz (1000 vezes). Testou-se oxitetraciclina 10% injetável, benzonidazol comprimidos de 100mg e aceturato de diminazeno 7% injetável comparados com um grupo controle, experimentalmente infectado, mas não tratado. As avaliações foram feitas por contagens diárias da presença de hemoparasitas em esfregaço sanguíneo, corado por Panótico Rápido®, por 60 dias. Os ratos foram necropsiados e avaliados histologicamente à procura de alterações microscópicas dos órgãos afetados. O tratamento feito com aceturato de diminazeno foi o mais eficaz no controle da parasitemia, havendo diferença significativa ($p < 0.05$) entre machos e fêmeas desse grupo, as quais apresentaram período de sobrevivência após o tratamento de 14,4 dias superior aos machos. Histologicamente as alterações encontradas nos órgãos afetados foram inespecíficas.

Palavras-chaves: oxitetraciclina, benzonidazol, diminazeno, *Trypanosoma evansi*.

ABSTRACT

Dissertation of Mastership
Post-graduation in Veterinary Medicine
Federal University of Santa Maria

**EFFECTIVENESS OF THREE MEDICATIONS IN THE
CONTROL OF THE EXPERIMENTAL INFECTION
FOR *TRYPANOSOMA EVANSI* IN RATS (*RATTUS
NORVEGICUS*) WISTAR STRAIN**

AUTHORESS: ROVAINA LAUREANO DOYLE

ADVISER: SÍLVIA GONZÁLEZ MONTEIRO

Date and defense's place: Santa Maria, March 15th 2006.

This paper aimed to describe some lab and histological findings from an experimental infection of *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* Steel, 1885 (Balbiani, 1888) in rats (*Rattus norvegicus*) belonging to the Wistar strain, testing the effectiveness of three medications. These animals were divided in 4 groups of 10 each and treated to three different chemical treatments after the detection of more than eight tripomastigotes for visual side of the blood smears at the light microscope with 1000 increase. Was tested injectable oxytetracycline 10%, benzonidazol *per oss* and injectable diminazene 7% while one infected and untreated group remained as control. Evaluation of treatment efficacy was performed through daily blood smears stained by Panotico Rápido® for 60 days. The rats were necropsied aiming histological examination. Treatment with diminazene was the most efficient since no parasites having significant difference ($p < 0.05$) between males and females of that group, which presented survive after the treatment of 14,4 days more than the males. Histological alterations findings were not specific.

Key words: oxytetracycline, benzonidazol, diminazene, *Trypanosoma evansi*.

INTRODUÇÃO

Trypanosoma evansi (*T. evansi*) é o agente etiológico da doença conhecida como mal das cadeiras em eqüinos, causadora de grandes perdas econômicas ao setor pecuário que depende dessa espécie para o manejo do gado. No Brasil, este protozoário é muito freqüente na região do Pantanal mato-grossense, sendo comumente encontrado em reservatórios domésticos e silvestres como capivaras, quatis, cães e pequenos roedores. Os tabanídeos são os principais vetores de *T. evansi*, entretanto vários insetos hematófagos, alguns morcegos e sanguessugas participam do ciclo da doença. Os cavalos acometidos pela tripanossomíase apresentam anemia, edema de membros e partes baixas, febre, letargia, manqueira, perda de apetite, emagrecimento, lacrimejamento, sangramentos nasais e oculares, podendo causar abortos e morte. Vários medicamentos podem ser usados no tratamento e profilaxia da doença, sendo comum o uso de associações de antibióticos e antiprotozoários.

Este trabalho objetivou verificar as alterações laboratoriais e histológicas da infecção experimental por *T. evansi* em ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar e testar a eficácia de três medicamentos. Foram testados um medicamento indicado para o controle da doença de Chagas humana (benzonidazol), outro para o controle da anaplasnose bovina (oxitetraciclina) e outro indicado no combate às tripanossomíases dos animais domésticos (aceturato de diminazeno). Demonstrando, através destes, as possíveis lesões teciduais desenvolvidas e as variações do ciclo biológico deste parasita, assim como a resposta dos animais infectados frente aos medicamentos utilizados.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trypanosoma evansi (*T. evansi*) é um protozoário da seção Salivaria e foi o primeiro tripanossoma patogênico descoberto em 1880, por Griffith Evans que encontrou organismos móveis no sangue de cavalos e camelos doentes. É o agente etiológico da doença secularmente conhecida como “mal das cadeiras” ou “surra” em eqüinos. Este protozoário teve sua origem no continente africano e foi introduzido nas Américas pelos primeiros colonizadores europeus. Desde então tem causado numerosos surtos com muitas mortes de eqüinos, resultando em elevados prejuízos aos sistemas pecuários extensivos que dependem do cavalo para o manejo (SILVA et al., 2002).

A classificação taxonômica proposta por FONSECA (2005) é a seguinte:

Império: Eucariota

Reino: Protozoa

Filo: Euglenozoa

Classe: Kinetoplastidea

Ordem: Trypanosomatida

Família Trypanosomatidae

Gênero: *Trypanosoma*

Seção: Salivaria (transmissão inoculativa)

Subgênero: Trypanozoon

Espécies: *Trypanosoma evansi*

T. evansi é geralmente monomórfico, tem um pequeno cinetoplasto subterminal, embora existam formas acinetoplásticas em que o DNA cinetoplástico circular é ausente, as quais são encontradas em cepas silvestres como resultado de mutação ou após tratamento com tripanocidas como aceturato de diminazeno. Formas acinetoplásticas também são reportadas após longo tempo em cultura *in vitro* e criopreservação (ZWIYGARTH et al., 1990), sendo que as cepas brasileiras são comprovadamente acinetoplásticas (VENTURA, 2000).

Os tripomastigotas encontrados na corrente sangüínea são basicamente de forma lancetada e o corpo é alongado e achatado. Ao corte transversal apresenta-se elíptico ou oval e suas extremidades são afiladas. A extremidade pela qual avança durante a locomoção é costumeiramente descrita como anterior final. Ela tipicamente termina em um fino ponto, enquanto que o final da extremidade posterior varia na forma, mas geralmente é mais larga,

afilando mais abruptamente ou terminando de forma romba ou ainda apresentando a ponta arredondada (SILVA et al., 2002) conforme figura 1.

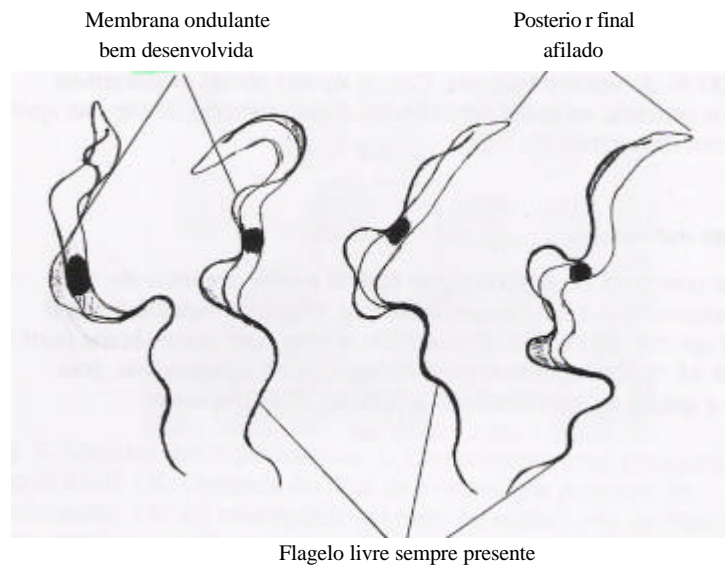


FIGURA 1 - Representação gráfica das características morfológicas de *T. evansi*. (Fonte: SILVA et al., 2002).

Muitos sinônimos ainda são encontrados para denominar o *Trypanosoma evansi* como: *Spirochaete evansi*, *Trypanosoma equinum*, *Trypanosoma soudanense*, *Trypanosoma hippicum*, *Trypanosoma venesuelense*, *Trypanosoma soudanense* Var. *Berberum*, *Trypanosoma cameli*, *Trypanosoma marocanum*, *Trypanosoma ninae* Kohl yakmov, *Trypanosoma su-auru*, entre outros (HOARE, 1972 **apud** SILVA et al., 2002).

O *T. evansi* tem uma distribuição geográfica extremamente ampla, podendo ocorrer na África, Índia, Malásia, Indonésia, China, Rússia, Filipinas, América Central e América do Sul, sendo comumente observado como parasitas do sangue de cavalos, camelos, burros, bovinos, zebuínos, caprinos, suínos, cães, búfalos, elefantes, capivaras, quatis, antas, veados e pequenos roedores silvestres (SILVA et al., 2002). Até pouco tempo atrás, os humanos eram considerados refratários à infecção por *T. evansi* (KUBIAK & MOLFI, 1954), entretanto, JOSHI et al. (2005) relataram o primeiro caso de infecção humana por *T. evansi* em um fazendeiro na Índia, sendo considerado curado seis meses após o tratamento com suramin (JOSHI et al., 2006).

Acredita-se que os surtos de mal das cadeiras no Pantanal são regidos pela concentração de animais em áreas de terra seca, presença de reservatórios silvestres

(principalmente capivaras e quatis), abundância da população de vetores e práticas de manejo local como tráfego intenso de rebanhos (DÁVILA et al., 1997).

Os tripanossomas são parasitos digenéticos, seu ciclo vital envolve dois hospedeiros. As formas sangüíneas dos tripanossomas, presentes nos vasos sanguíneos de vertebrados, são adquiridas pelo inseto durante repasto sangüíneo (SILVA et al., 2002). Como a transmissão é mecânica, não há o desenvolvimento do hematozoário em nenhum órgão do vetor e quanto menor a diferença de tempo entre os repastos sangüíneos maiores são as possibilidades de passagem do parasita para um novo hospedeiro (HOARE, 1972 **apud** RUE, 1996). Estes tripanossomas se reproduzem por fissão binária longitudinal quando estão no sangue de seu hospedeiro mamífero (BRUN et al., 1998).

Vários gêneros de dípteros hematófagos têm sido considerados vetores transmissores de *T. evansi* (FOIL, 1989), a transmissão é principalmente atribuída aos tabanídeos (*Tabanus sp.*, *Crysops sp.* e *Hematopota sp.*) considerados transmissores mecânicos (JONES et al, 1997).

A transmissão por outros insetos como *Stomoxys*, *Musca* e *Haematobia* também pode ocorrer quando a densidade do gado ou o número de moscas for muito alto (JONES et al., 1997), isto porque tripanossomas com movimentos ativos dentro do tubo digestivo desses insetos podem ser observados em apenas sete a oito horas após o repasto sangüíneo (KUBIAK & MOLFI, 1954).

O mal das cadeiras também pode ser transmitido por morcegos hematófagos, que sofrem a ação patogênica do parasita levando-os à morte. Os sobreviventes podem continuar a transmitir os tripanossomas por longos períodos de tempo (HOARE, 1972 **apud** RUE, 1996). Há também a capacidade de transmissão mecânica de *T. evansi* por sanguessugas (CARREIRA, 2005).

As tripanossomíases compreendem um grupo de doenças do homem e de animais causadas por duas grandes seções de tripanosomatídeos, Salivaria e Stercoraria, divididas de acordo com o tipo de transmissão, sendo a primeira pela saliva e a segunda por contaminação fecal. Basicamente, para os mamíferos, dividem-se as seções em sete subgêneros, os quais incluem numerosas espécies de *Trypanosoma*. Didaticamente, as doenças causadas pelos tripanossoma no homem e animais domésticos são agrupadas em: tripanossomíase africana, causada pelo *Trypanosoma brucei* e transmitida pela mosca Tsé-tsé (gênero *Glossina*); doença de Chagas, causada pelo *Trypanosoma cruzi*, zoonose restrita ao continente americano, transmitida pelas fezes de hemípteros hematófagos; "durina", causada pelo *Trypanosoma equiperdum* e o mal das cadeiras, causado pelo *Trypanosoma evansi*, transmitida

principalmente por insetos hematófagos (LOSOS, 1980). É uma doença muito comum na região do Pantanal mato-grossense e outras áreas inundáveis do Brasil. A estação das cheias no Pantanal (setembro a janeiro) representa o período de maior risco na transmissão de tripanossomas pelos mencionados insetos, devido à sua abundância e pico populacional e à presença de espécies de notável capacidade vetorial como o *Tabanus importunus* (SILVA et al., 2002), uma vez que, após o terceiro dia do repasto sanguíneo, este ainda apresenta tripanossomas vivos no conteúdo intestinal (KUBIAK & MOLFI, 1954).

De acordo com LOSOS (1986) as respostas imunológicas das tripanossomíases dependem da complexa composição antigênica dos parasitas. Os antígenos comuns se originam de vários componentes do núcleo e do citoplasma e não são protetores, mas responsáveis pelas reações sorológicas cruzadas entre as espécies. Os antígenos variantes, devido a sua heterogeneidade nas populações infectadas de tripanossomas, favorecem à sobrevivência e multiplicação do parasita apesar de estimularem anticorpos protetores.

Os tripanossomas salivários induzem resposta imunológica celular e humoral. A primeira fagocitando os parasitas intracelulares e a segunda sendo responsável pela lise dos tripanossomas. O aspecto imunológico toma caráter fundamental devido à proteção que é encontrada em animais previamente infectados com *T. evansi*. A proteção é dita total quando o animal é reinfectado por cepas homólogas do protozoário e a proteção é somente parcial quando as cepas são heterólogas. Este aspecto torna-se fundamental devido aos sucessivos deslocamentos de animais que acabam sempre entrando em contato com outras cepas de tripanossomas e gozam, naquele momento, de proteção apenas parcial (UCHE & JONES, 1994).

O envolvimento imunológico pode ser também responsável por destruição dos tecidos uma vez que, em animais infectados por *T. brucei*, foi observado acúmulo de IgG e IgM em lesões musculares e cardíacas, além de grande deposição de antígenos de tripanossoma nestes tecidos (GALVÃO-CASTRO et al., 1978).

A tripanossomíase causa sinais clínicos em cavalos como anemia, edema de membros e partes baixas, febre, letargia, perda de apetite, emagrecimento, lacrimejamento, aborto e perda de condição corporal (SILVA et al., 1995), edemas palpebrais, no ventre, região prepucial e xifóide, formações de placas cutâneas onde os pêlos ficam eriçados (KUBIAK E MOLFI, 1954), sangramentos nasais e oculares e uma manqueira típica que denomina a doença (CARREIRA, 2005) causada pelas alterações no líquido. Em eqüinos, essas alterações incluem aumento do teor de albumina, diminuição da taxa de cloretos e da glicose (sendo inconstante essa última) e aumento considerável do número de leucócitos. Em determinados

casos, o número de glóbulos brancos excede de mil por mililitro, com predominância de linfócitos. O número de leucócitos está relacionado com a gravidade das lesões nervosas. Também é observado o aumento da permeabilidade da barreira meníngea, entretanto apenas em 5% dos casos o *T. evansi* consegue ultrapassar esta barreira e atingir o líquido (KUBIAK & MOLFI, 1954).

O mal das cadeiras pode evoluir de maneira aguda ou crônica, dependendo da velocidade de evolução dos sinais clínicos, na forma crônica, a morte do animal ocorre em um período que oscila entre dois ou mais meses, apresentando-se extremamente magro, enfraquecido e anêmico (KUBIAK E MOLFI, 1954), sendo rapidamente fatal em cães (MAHMOUD & GRAY, 1980).

A anemia é uma característica comum das infecções por tripanossomas é de natureza hemolítica em resultado à eritrofagocitose no baço, fígado, pulmões, linfonodos, medula óssea e circulação (JAIN, 1993) devido à ação traumática direta dos protozoários sobre as hemácias que aumentam a fragilidade celular (HOLWIL, 1965), além do aspecto imunológico envolvido, uma vez que os antígenos de tripanossomas se aderem à membrana das hemácias, tornando-as susceptíveis à fagocitose pelos macrófagos (HERBERT & INGLIS, 1973), que são ativados pelos anticorpos parasito-específicos. Isto seria explicado pelo fato de que macrófagos normais, não sensibilizados, têm dificuldade para capturar os tripanossomas (SILVA et al., 2002).

Durante a necropsia de eqüinos vitimados por tripanossomíase, são observadas acentuada esplenomegalia, adenite congestiva e hemorrágica, icterícia pouco acentuada, hipertrofia dos linfonodos, nefrite, hemorragia intersticial, nas cavidades serosas e articulações, há exudato sero-firinoso. (KUBIAK & MOLFI, 1954). A esplenomegalia é frequentemente encontrada em infecções por hematozoários e, provavelmente, se deve à remoção de hemácias da corrente sangüínea. Ocorre ainda, aumento da fagocitose pelas células do sistema retículo-endotelial, o que não aumenta só a retirada de células alteradas, como também de células normais (MURRAY et al., 1974).

As alterações histológicas freqüentemente encontradas em infecção por *T. evansi* em ratos incluem alterações inflamatórias, degenerativas e necróticas no fígado, que apresenta formação pseudolobular, necrose e hemorragia, sendo a degeneração gordurosa das células hepáticas a predominante. O baço pode apresentar agregação de células gigantes, lesão granulomatosa e acúmulo de histiócitos. Desenvolvimento gradual de inflamação intrabronqueal, agregação das células inflamatórias ao redor dos alvéolos, congestão dos bronquíolos, edema septal, atrofia das paredes septais, migração de macrófagos e enfisema

são as alterações notadas nos pulmões. Os rins afetados mostram infiltrado de linfócitos, hemorragia no espaço interlobular e glomerulonefrite. No coração ocorre degeneração do miocárdio. Os possíveis mecanismos dessas alterações histológicas nos órgãos viscerais na são totalmente compreendidas (BISWAS et al., 2001).

Em cães são observados, ao exame histológico, hiperplasia linfóide no baço e linfonodos e infiltrado mononuclear periportal e esteatose de padrão centrolobular no fígado. Também pode ocorrer infiltrado mononuclear intenso no miocárdio e acúmulo de células mononucleares junto às meninges (AQUINO et al., 2002).

O diagnóstico presuntivo desta doença em eqüinos pode ser feito a partir dos sinais clínicos, que são bastante característicos nesta espécie, entretanto o diagnóstico definitivo somente poderá ser estabelecido através de exames laboratoriais, como a identificação dos tripomastigotas em esfregaço de sangue corado, podendo-se também visualizar as formas móveis em uma gota de sangue fresco entre lâmina e lamínula ao microscópio de luz, inoculação em animais sensíveis, esplenocontração adrenalítica, punção ganglionar e exame de líquido (KUBIAK & MOLFI, 1954). Segundo TOURANTIER (1993) a técnica do microhematócrito é a mais adequada para diagnóstico em termos de praticidade, custo e sensibilidade. Atualmente, estão sendo testadas técnicas moleculares baseadas na detecção de DNA como diagnóstico de tripanossomíase. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é bastante usada, entretanto deve ser usado um ensaio baseado na amplificação do fragmento Te664 específico para *T. evansi* e presente em cepas acinetoplásticas, assim viabilizando o emprego dessa técnica em isolados brasileiros, comprovadamente acinetoplásticos (VENTURA, 2000). SILVA et al. (2003) consideram efetivos para o diagnóstico das tripanossomíases o método do aspirado do linfonodo (MAL), o método da gota espessa (MGE), o método do esfregaço sanguíneo (MES), o método do microhematócrito ou método de Woo (MME) e o método da inoculação em camundongo (MIC).

O aceturato de diminazeno é o produto mais comumente usado nas tripanossomíases dos animais domésticos, pois apresenta maior índice terapêutico que as outras drogas na maioria das espécies domésticas, tem atividade contra tripanossomas que são resistentes a outros medicamentos e apresenta baixa incidência de resistência (PEREGRINE & MAMMAM, 1993).

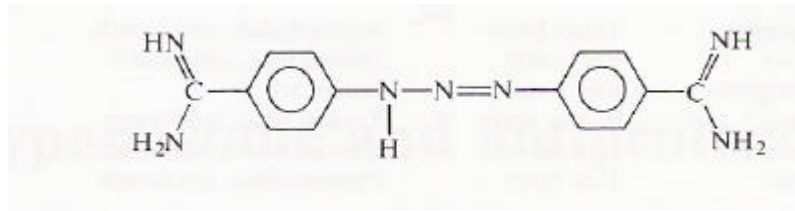


FIGURA 2 – Representação gráfica da fórmula do aceturato de diminazeno (Fonte: BRANDER et al., 1991).

Aceturato de diminazeno, também conhecido por berenil ou diaceturato de 4,4-diazoaminodibenzamidina, é uma diamidina que tem atividade tripanocida, babesicida e também bactericida (principalmente *Brucella sp.* e *Streptococcus sp.*). Em infecções por babesias, uma dose única de 3,5 mg/kg pode ser usada em eqüinos, bovinos, ovinos e caninos, sendo que os sinais clínicos desaparecem em 24 horas. Em infecções por *T. vivax* e *T. brucei*, pode ser usada uma dose de 3,5 mg/kg de peso vivo, entretanto, em infecções por *T. brucei* resistentes, pode-se duplicar a dose (BRANDER et al., 1991).

O aceturato de diminazeno tem mostrado ação profilática limitada devido à sua atividade sérica de 21 dias em média (MILLER et al., 2005). Pode ocorrer reação no local da injeção, o que pode ser grave em eqüinos, fora isto, graves efeitos colaterais não são observados respeitando-se a dosagem indicada (BRANDER et al., 1991).

A oxitetraciclina é um antibiótico de largo espectro derivado do *Streptomyces rimosus* eficaz sobre uma variedade de germes gram-positivos e gram-negativos, mycoplasmas, clamídias e rickettsias como *Ehrlichia* e *Anaplasma*. Atua interferindo na síntese protéica (BRANDER et al., 1991) sendo freqüentemente usada em formulações comerciais associada ao aceturato do diminazeno no tratamento de tripanossomíases, por exemplo: Ganatet®, medicamento à base de aceturato de diminazeno (35mg/ml) e oxitetraciclina (70mg/ml) (Novartis - Brasil), Plasmol Dorado®, medicamento à base de aceturato de diminazeno (35mg/ml), oxitetraciclina (70mg/ml) e dipirona (370mg/ml) (Laboratórios Biomont S.A. - Peru) e Ganazoo®, medicamento à base de aceturato de diminazeno (60mg/ml), oxitetraciclina (120mg/ml) e dipirona sódica (500mg/ml) (Bio-Zoo - México).

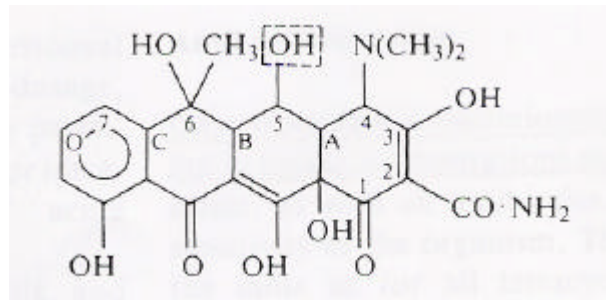


FIGURA 3 - Representação gráfica da fórmula da oxitetraciclina (Fonte: BRANDER et al., 1991).

A oxitetraciclina atinge níveis sanguíneos efetivos em duas a quatro horas após sua administração, atingindo níveis terapêuticos em muitos tecidos e fluidos em curto espaço de tempo. É excretada pelos sistemas urinário, intestinal e biliar, não sendo comum a ocorrência de toxicidade aguda. A dose recomendada para eqüinos é de 5 a 10 mg/kg de peso vivo (BRANDER et al., 1991).

A oxitetraciclina atravessa a barreira hemato-encefálica, embora os níveis terapêuticos apenas apareçam no líquido cérebro-espinhal quando as meninges estão inflamadas ou danificadas (BRANDER et al., 1991), o que ocorre durante a infecção por *T. evansi*, uma vez que este aumenta a permeabilidade da barreira meníngea (KUBIAK & MOLFI, 1954).

Benzonidazol é o nome genérico da N-benzil-2-nitro-1-imidazolacetamina, molécula desprovida de cargas e grupos funcionais ácidos ou básicos, na faixa de pH de interesse fisiológico (pH 1 a 8). Muito pouco solúvel em água (40 mg para 100ml a 37 °C), indicado para o controle da doença de Chagas humana (DIAS & COURA, 1997).

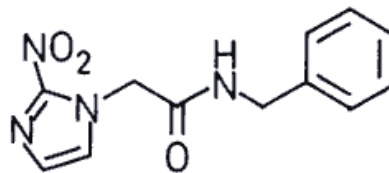


FIGURA 4 - Representação gráfica da fórmula do benznidazol (Fonte: DIAS & COURA, 1997).

É ativo contra formas epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas. A atividade antichagásica é incontroversa. É hoje o único medicamento ativo contra *Trypanosoma cruzi* disponível para uso clínico no Brasil, sendo eficaz nas formas aguda e crônica (DIAS &

COURA, 1997), tendo efeito protetor durante a fase crônica da doença de Chagas (ESTANI & SEGURA, 1999). Pode causar reações adversas como: sintomas de hipersensibilidade (dermatite, caracterizada por erosão cutânea, edemas generalizados, febre, enfartamento ganglionar, dores articulares e musculares), depleção da medula óssea (neutropenia, agranulocitose e púrpura trombocitopênica) e polineuropatia periférica. A dose indicada é de 5 a 10 mg/kg de peso vivo (DIAS & COURA, 1997).

O uso extensivo de drogas disponíveis para o controle da tripanossomíase bovina, resultou no surgimento de resistência às drogas em muitas partes da África. (PEREGRINI & MAMMAM, 1993).

CAPÍTULO 2

Eficácia de três medicamentos no controle da infecção experimental por *Trypanosoma evansi* em ratos (*Rattus norvegicus*) linhagem Wistar

Effectiveness of three medications in the control of the experimental infection for *Trypanosoma evansi* in rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain

**Doyle, Rovaina Laureano¹; Monteiro, Sílvia González²; Silva, Aleksandro Schafer da³,
Graça, Dominguita Lühers⁴; Santúrio, Jânio Moraes⁵**

RESUMO

Este trabalho objetivou verificar os achados laboratoriais e histológicos da infecção experimental por *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* (Steel, 1885) Balbiani, 1888, em ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, testando a eficácia de três medicamentos. Foram utilizados 40 ratos, divididos em quatro grupos de 10 cada, sendo cada grupo composto por 5 machos e cinco fêmeas, os quais foram tratados com três quimioterápicos distintos após a detecção de parasitemia superior a oito tripomastigotas por campo visual do esfregaço sanguíneo ao microscópio de luz (1000 vezes). Testou-se oxitetraciclina 10% injetável, benzonidazol comprimidos de 100mg e aceturato de diminazeno 7% injetável comparados com um grupo controle, experimentalmente infectado, mas não tratado. As avaliações foram feitas por contagens diárias da presença de hemoparasitas em esfregaço sanguíneo, corado por Panótico Rápido®, por 60 dias. Os ratos foram necropsiados e avaliados histologicamente à procura de alterações microscópicas dos órgãos afetados. O tratamento feito com aceturato de

¹ Médico Veterinário, aluno do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Parasitologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: rovainadoyle@yahoo.com.br. Autor para correspondência.

² Médico Veterinário, PhD, Professor Titular do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFSM, Professor orientador, Brasil. E-mail: sgmonteiro@uol.com.br.

³ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Bolsista do CNPq, Brasil.

⁴ Médico Veterinário, PhD, Professor Titular do Departamento de Patologia, UFSM, Brasil.

⁵ Médico Veterinário, Doutor, Professor Titular do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFSM, Brasil.

diminazeno foi o mais eficaz no controle da parasitemia, havendo diferença significativa ($p < 0.05$) entre machos e fêmeas desse grupo, as quais apresentaram período de sobrevivência após o tratamento de 14,4 dias superior aos machos. Histologicamente as alterações encontradas nos órgãos afetados foram inespecíficas.

Palavras-chaves: oxitetraciclina, benzonidazol, diminazeno, *Trypanosoma evansi*.

ABSTRACT

This paper aimed to describe some lab and histological findings from an experimental infection of *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* Steel, 1885 (Balbiani, 1888) in rats (*Rattus norvegicus*) belonging to the Wistar strain, testing the effectiveness of three medications. These animals were divided in 4 groups of 10 each and treated to three different chemical treatments after the detection of more than eight tripomastigotes for visual side of the blood smears at the light microscope with 1000 increase. Was tested injectable oxytetracycline 10%, benzonidazol *per oss* and injectable diminazene 7% while one infected and untreated group remained as control. Evaluation of treatment efficacy was performed through daily blood smears stained by Panotico Rápido® for 60 days. The rats were necropsied aiming histological examination. Treatment with diminazene was the most efficient since no parasites having significant difference ($p < 0.05$) between males and females of that group, which presented survive after the treatment of 14,4 days more than the males. Histological alterations findings were not specific.

Key words: oxytetracycline, benzonidazol, diminazene, *Trypanosoma evansi*.

INTRODUÇÃO

Trypanosoma evansi é um protozoário da seção Salivaria, agente etiológico da doença conhecida como “mal das cadeiras” ou “surra” em equinos (SILVA et al., 2002). É geralmente monomórfico, tem um pequeno cinetoplasto subterminal, embora existam formas acinetoplásticas, como as cepas brasileiras, comprovadamente acinetoplásticas (VENTURA, 2000).

Tem ampla distribuição geográfica, podendo ocorrer na África, Índia, Malásia, Indonésia, China, Rússia, Filipinas, América Central e América do Sul, sendo comumente observado parasitando o sangue de cavalos, camelos, burros, bovinos, zebuínos, caprinos, suínos, cães, búfalos, elefantes, capivaras, quatis, antas, veados e pequenos roedores silvestres (SILVA et al., 2002). Até pouco tempo atrás, os humanos eram considerados refratários à infecção por *T. evansi* (KUBIAK & MOLFI, 1954), entretanto, JOSHI et al. (2005) relataram o primeiro caso de infecção humana por *T. evansi* em um fazendeiro na Índia, sendo considerado curado seis meses após o tratamento com suramin (JOSHI et al., 2006).

Os tripanossomas são parasitos digenéticos que se reproduzem por fissão binária longitudinal quando estão no sangue de seu hospedeiro mamífero (BRUN et al., 1998). Os tripomastigotas presentes nos vasos sanguíneos de vertebrados são adquiridas pelo inseto durante repasto sanguíneo, a transmissão é principalmente atribuída aos tabanídeos (*Tabanus sp.*, *Crysops sp.* e *Hematopota sp.*), sendo *Tabanus importunus* o principal vetor (SILVA et al., 2002), uma vez que, após o terceiro dia do repasto sanguíneo, este ainda apresenta tripanossomas vivos no conteúdo intestinal (KUBIAK & MOLFI, 1954). Outros insetos hematófagos como *Stomoxys*, *Musca* e *Haematobia* também podem transmitir *T. evansi* quando a densidade do gado ou o número de moscas for muito alto (JONES et al., 1997). Havendo também a possibilidade de transmissão por morcegos hematófagos, (HOARE, 1972 **apud** RUE, 1996) e sanguessugas (CARREIRA, 2005).

A tripanossomíase causa sinais clínicos em cavalos como anemia, edema de membros e partes baixas, febre, letargia, perda de apetite, emagrecimento, lacrimejamento, aborto e perda de condição corporal (SILVA et al., 1995), formações de placas cutâneas onde os pêlos ficam eriçados (KUBIAK E MOLFI, 1954), sangramentos nasais e oculares e uma manqueira típica que denomina a doença (CARREIRA, 2005), causada pelas alterações no líquido e aumento da permeabilidade da barreira meníngea (KUBIAK E MOLFI, 1954), sendo rapidamente fatal em cães (MAHMOUD & GRAY, 1980).

A anemia é uma característica comum das infecções por tripanossomas é de natureza hemolítica em resultado à eritrofagocitose no baço, fígado, pulmões, linfonodos, medula óssea

e circulação (JAIN, 1993) devido à ação traumática direta dos protozoários sobre as hemácias que aumentam a fragilidade celular (HOLWIL, 1965), além do aspecto imunológico envolvido, uma vez que os antígenos de tripanossomas se aderem à membrana das hemácias, tornando-as susceptíveis à fagocitose (HERBERT & INGLIS, 1973).

A esplenomegalia é freqüentemente encontrada em infecções por hematozoários e, provavelmente, se deve à remoção de hemácias da corrente sangüínea. Ocorre ainda, aumento da fagocitose pelas células do sistema retículo-endotelial, o que não aumenta só a retirada de células alteradas, como também de células normais (MURRAY et al., 1974).

O diagnóstico presuntivo desta doença em eqüinos pode ser feito a partir dos sinais clínicos, que são bastante característicos nessa espécie, entretanto o diagnóstico definitivo somente poderá ser estabelecido através de exames laboratoriais (KUBIAK & MOLFI, 1954). SILVA et al. (2003) consideram efetivos para o diagnóstico das tripanossomíases o método do aspirado do linfonodo (MAL), o método da gota espessa (MGE), o método do esfregaço sangüíneo (MES), o método do microhematócrito ou método de Woo (MME) e o método da inoculação em camundongo (MIC). Atualmente, estão sendo testadas técnicas moleculares baseadas na detecção de DNA como diagnóstico de tripanossomíase. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é bastante usada, entretanto deve ser específica para *T. evansi* e cepas acinetoplásticas, assim viabilizando o emprego dessa técnica em isolados brasileiros, comprovadamente acinetoplásticos (VENTURA et al., 2000).

O aceturato de diminazeno, também conhecido por berenil ou diaceturato de 4,4-diazoaminodibenzamidina é o produto mais comumente usado no controle das tripanossomíases dos animais domésticos por apresentar alto índice terapêutico na maioria das espécies domésticas, além de ser ativo contra tripanossomas que são resistentes a outros medicamentos, apresentando uma baixa incidência de resistência (PEREGRINE & MAMMAM, 1993), é uma diamidina que tem atividade tripanocida, babesicida e também bactericida (principalmente *Brucella sp.* e *Streptococcus sp.*). Uma dose única de 3,5 mg/kg pode ser usada em eqüinos, bovinos, ovinos e caninos, sendo que os sinais clínicos

desaparecem em 24 horas (BRANDER et al., 1991), entretanto tem mostrado ação profilática limitada devido a sua atividade sérica de 21 dias em média (MILLER et al., 2005).

A oxitetraciclina é um antibiótico de largo espectro derivado do *Streptomyces rimosus* eficaz sobre uma variedade de germes gram-positivos e gram-negativos, mycoplasmas, clamídias e rickettsias como *Ehrlichia* e *Anaplasma*. Atua interferindo na síntese protéica (BRANDER et al., 1991) sendo freqüentemente usada em formulações comerciais associada ao aceturato de diminazeno no tratamento de tripanossomíases. A oxitetraciclina atravessa a barreira hemato-encefálica, embora os níveis terapêuticos apenas apareçam no líquido cérebro-espinhal quando as meninges estão inflamadas ou danificadas (BRANDER et al., 1991), o que ocorre durante a infecção por *T. evansi*, uma vez que este aumenta a permeabilidade da barreira meníngea (KUBIAK & MOLFI, 1954). A dose recomendada para eqüinos é de cinco a dez mg/kg de peso vivo (BRANDER et al., 1991).

Benzonidazol é indicado para o controle da doença de Chagas humana, ativo contra formas epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas. É hoje o único medicamento ativo contra *Trypanosoma cruzi* disponível para uso clínico no Brasil, sendo eficaz nas formas aguda e crônica, a dose indicada é de 5 a 10 mg por quilo de peso vivo (DIAS & COURA, 1997), tendo efeito protetor durante a fase crônica da doença de chagas (ESTANI & SEGURA, 1999).

O objetivo deste experimento foi descrever os achados laboratoriais e histológicos da infecção de ratos Wistar por *T. evansi*, além de testar a eficácia do seu tratamento com três medicamentos diferentes.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, onde foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus*) linhagem Wistar, machos e fêmeas entre 3 e 4 meses de idade, pesando em média 300 g, divididos em 4 grupos de 10 animais, sendo cada grupo composto por 5 machos e cinco fêmeas separados em oito gaiolas ao todo, sendo alimentados diariamente com ração

comercial para ratos e água à vontade, identificados por números, enquanto as gaiolas foram identificadas por letras de acordo com os tratamentos recebidos, sendo A (machos) e B (fêmeas) os grupos controle, C (machos) e D (fêmeas) o grupo medicado com oxitetraciclina, E (machos) e F (fêmeas) os grupos medicados com benzonidazol e G (machos) e H (fêmeas) os grupos tratados com aceturato de diminazeno.

Foi utilizada a cepa de campo isolada de uma infecção natural em cão descrita por COLPO et al. (2005), mantida em laboratório sob cultura viva em ratos Wistar.

O sangue foi inoculado nos ratos por via intraperitoneal, na dose de $2,72 \times 10^6$ tripomastigotas por animal (dosagem adquirida através da contagem em câmara de Neubauer) sendo este, considerado o dia 0 (zero) do experimento.

Os ratos foram diariamente avaliados para a presença de hemoparasitas, através da pesquisa microscópica de esfregaço do sangue, coletado da veia da cauda de cada animal, sendo corado por Panótico Rápido®⁶ e observado ao microscópio de luz com objetiva de imersão (1000 vezes) para pesquisa e contagem dos hemoparasitas após 10 minutos da coloração durante 60 dias.

Os tratamentos foram instituídos e mantidos quando os animais apresentavam 8 ou mais tripomastigotas por campo visualizados na lâmina do esfregaço sanguíneo.

Os medicamentos foram adaptados para uso em roedores. A solução à base de oxitetraciclina⁷ a 10% foi utilizada sem alterações, na dose de 30mg/kg peso vivo, nos grupos C e D.

Os comprimidos à base de benzonidazol⁸ foram triturados e dissolvidos em solução glicosada estéril a 20%, resultando em uma suspensão com 25,6 mg/ml, sendo utilizados 10,24 mg por animal dividido em duas administrações diárias por via oral, nos grupos E e F.

O medicamento à base de aceturato de diminazeno⁹ foi diluído em água para injeção resultando em uma solução a 3,5%, sendo utilizada a dose de 3,5 mg/kg de peso vivo, nos grupos G e H.

⁶ Panótico Rápido®: coloração comercial composta por um fixador (a base de triarilmetano) e dois corantes a base xantenos e tiazinas a 0,1% (Laborclin - Brasil)

⁷ Apresentação: frascos de 10 e 50ml de oxitetraciclina a 10%. (Tortuga - Brasil).

⁸ Apresentação: frascos com 100 comprimidos birranhurados com 100mg de Benzonidazol (Roche - Brasil).

Os animais mortos foram necropsiados segundo as técnicas descritas por LUCCA et al., 1991, sendo coletados fragmentos de fígado, baço, rim, glândula adrenal, olho e coração. Todos os fragmentos foram colocados em formol tamponado a 10% e processados histologicamente, sendo levadas para análise ao Laboratório de Patologia Veterinária da UFSM.

Foram feitas análises de variância (ANOVA) para evidenciar possíveis variações entre os períodos pré-patente e de sobrevivência dos ratos machos e fêmeas nos três tratamentos em relação ao grupo controle. Foi aplicado o Teste de TUKEY para comparação entre as médias, calculando-se o coeficiente de variação para verificar a precisão dos dados (SILVA & AZEVEDO, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ratos infectados não apresentaram sinais clínicos aparentes durante a parasitemia, apresentando-se prostrados em torno de oito horas antes da morte.

Durante a necropsia, todos os animais infectados apresentaram esplenomegalia de grau variado. Essa também foi a principal alteração macroscópica encontrada por HAROUN et al. (2003), testando a eficácia de dois medicamentos contra *T. evansi*, onde observaram acentuada esplenomegalia, em ratos Wistar infectados por uma cepa recém isolada de camelos, chegando a triplicar o tamanho do baço, também observaram congestão leve no coração, fígado e rins, sinais não observados nesse experimento.

Um dos animais deste experimento apresentou hemorragia pulmonar e outro apresentou a bexiga com conteúdo hemorrágico provavelmente por alterações hemostáticas, comumente associadas às tripanosomíases (BRANDÃO et al., 2002).

Nas avaliações histológicas não foram encontradas formas tripomastigotas do *T. evansi* nos vasos viscerais. Ao exame microscópico, os órgãos apresentaram-se congestos e, principalmente fígado e pulmão, com infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto a moderado, com alguns polimorfonucleares eosinófilos. O baço apresentou hemossiderose

⁹ Apresentação: frasco ampola contendo 30 ml de diaceturato de 4,4-diazoaminodibenzamidina a 7%, injetável (Shering-Plough - Brasil).

discreta, enquanto nos linfonodos foram observados numerosos plasmócitos, tanto no córtex, paracórtex e cordões medulares. Um dos animais apresentou pneumonia supurativa subaguda.

BISWAS et al. (2001) também relataram alterações inflamatórias no fígado e pulmões e lesões degenerativas no baço e HAROUN et al. (2003) verificaram necrose e substituição por células inflamatórias mononucleares no fígado e alterações gordurosas no baço em ratos.

Também foi verificada a presença de infiltrado de linfócitos e plasmócitos nos linfonodos, baço, cérebro pâncreas e outros órgãos de animais infectados por *T. brucei* pesquisados por MOULTON & SOLLOD (1976 **apud** RUE, 1996).

O período pré-patente, compreendido desde a infecção até a detecção dos tripomastigotas no sangue periférico, não demonstrou variação significativa entre grupos tratados, nem entre machos e fêmeas, sendo, em média, de 1,6 dias, com inoculação de $2,72 \times 10^6$ tripomastigotas por animal. QUEIROZ et al. (2001) também relataram o período pré-patente de infecção de ratos Wistar pelo *T. evansi* com média de 1,5 dias após a inoculação de 10^6 e 10^3 tripomastigotas por grama de peso vivo, não encontrando diferença significativa entre os dois grupos infectados quanto aos níveis de anticorpos desenvolvidos e no período de sobrevivência dos animais pós-inoculação. O período de tratamento apresentou reincidência no grupo tratado com Aceturato de Diminazeno, uma vez que os tripomastigotas eram eliminados da corrente sangüínea em até dois dias de tratamento e retornavam à infecção após 15 a 30 dias, como pode ser visto no gráfico 1, sendo novamente efetuado o tratamento. Esta reincidência concorda com KAMINSKI & BRUN (1998). Os autores citam que os medicamentos anti-tripanososoma mais recentes, não ultrapassam a barreira hematoencefálica em doses suficientes, sendo esta, uma possível área de refúgio dos tripanossomas durante o período de atuação sistêmica do medicamento.

A rápida queda da parasitemia após a administração de aceturato de diminazeno deve-se à sua rápida distribuição sangüínea, MILLER et al. (2005) afirmam que em uma hora após a injeção intramuscular, este medicamento atinge 75% do plasma, recomendando a administração de 4,2 mg/kg não se devendo repetir a dose dentro de 21 dias, pois ainda restam resíduos circulantes ativos deste medicamento no sistema sangüíneo do animal.

O período de sobrevivência dos animais após o tratamento, ou seja, desde o início da administração dos medicamentos até a morte do animal ou encerramento do experimento, apresentou diferença significativa tanto entre machos e fêmeas quanto entre os grupos tratados. O grupo tratado com aceturato de diminazeno apresentou período de sobrevivência de 28,8 dias, em média, para machos e de 43,2 dias, em média, para fêmeas, enquanto o grupo tratado com oxitetraciclina demonstrou período de sobrevivência de 3,8 dias, em média, e o grupo tratado com benzonidazol sobreviveu, em média, 9,8 dias após o início do tratamento, sendo que, nesses dois últimos grupos, não houve diferença significativa quanto ao sexo dos animais testados. Os resultados da avaliação destes períodos encontram-se na tabela 1. Enquanto os animais do grupo controle sobreviveram, em média, 2,2 dias pós-infecção, o que corresponde a um período pós-patente de 1,2 dias, resultados diferentes dos encontrados por OLIVEIRA et al. (1989), em que os ratos apresentaram período pós-patente de 2 a 6 dias.

Esta diferença entre os tratamentos ocorre porque o aceturato de diminazeno é o medicamento mais indicado contra tripanosomíase animal (PEREGRINE & MAMMAM, 1993), a oxitetraciclina é indicada no combate aos parasitas intracelulares, (BRANDER et al., 1991) e o benzonidazol tem atividade específica contra o *Trypanosoma cruzi* (DIAS & COURA, 1997).

CONCLUSÃO

Neste estudo pôde-se verificar que ratos Wistar infectados com *T.evansi* não apresentam sinais clínicos nem alterações histológicas que caracterizem a doença, sendo necessária a avaliação microscópica de esfregaços sangüíneos para detecção do parasita.

Também verificou-se a eficácia do medicamento aceturato de diminazeno no combate ao *T. evansi*, entretanto, o tratamento em ratos Wistar não deve ser considerado curativo tendo em vista a reincidência da infecção observada neste experimento.

BIBLIOGRAFIA

BISWAS, D. et al. Histopathology of *Trypanosoma* (Trypanozoon) *evansi* infection in bandicoot rat. I. visceral organs. **Experimental Parasitology**, v.99, n.3, p.148-159, 2001.

BRANDÃO, L.P. et al. Infecção Natural pelo *Trypanosoma evansi* em cão – Relato de caso. **Clínica Veterinária**, Ano VII, n.6, p.23-26, 2002.

BRANDER, G.C. et al. **Veterinary Applied Pharmacology & Therapeutics**. 5ed. Ballière Tindall, London, 1991.

BRUN, R. et al. *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship (a review). **Veterinary Parasitology**, v.79, p.95-107, 1998.

CARREIRA, J.C. Sanguessugas podem transmitir o mal das cadeiras, doença de equinos que tem grande importância econômica no Brasil. **On line**. Capturado em 15/12/2005. Disponível na Internet: http://www.fiocruz.br/ccs/novidades/abr05/sanguessuga_adr.htm.

COLPO, C.B. et al. Infecção Natural por *Trypanosoma evansi* em cão no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p.717-719, 2005.

CROFT, S.L. Pharmacological Approaches to Antitrypanosomal Chemotherapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.94, n.2, p.215-220, 1999.

DIAS, J.C.P. & COURA, J.R. **Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas: Uma abordagem prática para o clínico geral**. Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro, 1997.

ESTANI, S.S. & SEGURA, E.L. Treatment of *Trypanosoma cruzi* Infection in the Undetermined Phase. Experience and Current Guidelines of Treatment in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, supl.I, p.363-365, 1999.

HAROUN, E.M. et al. A Preliminary Comparative Study on the Efficacy of Quinapyramine Sulphate/Chloride and Melarsoprol in Rats, Experimentally Infected with *Trypanosoma evansi*. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v.6, n.4, p.215-221, 2003.

HERBERT, C.N. & INGLIS, M.D. Immunization of mice against *Trypanosoma brucei* infections by administration of released antigens absorbed to erythrocytes. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, v.67, p. 268-272, 1973.

HOLWIL, M.G. Deformation of erythrocytes by trypanosomes. **Experimental Cellular Research**, v.37, p.306-311, 1965.

JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia, Lea & Fabinger, 417p. 1993.

JONES, T.W. et al. *Trypanosoma evansi* in the Republic of Indonesia. **Proceedings of the first Internet Conference on Salivarian Trypanosomes**, FAO, Animal Production and Health Paper, n.135, 56p., 1997.

JOSHI, P.P. et al. Human Trypanosomosis Caused by *Trypanosoma evansi* in India: The First Case Report. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.73, n.3, p.491-495, 2005.

JOSHI, P.P. et al. Treatment and follow-up of the first case of human tripanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi* in India. **Transactions oh the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. Available online 7 February 2006. **On line**. Capturado em 20 de fevereiro de 2006. disponível na Internet: <http://www.sciencedirect.com/science>

KAMINSKY, R. & BRUN, R. *In Vivo* and *In vitro* Activities of Trybazine Hydrochloride against Various Pathogenic Trypanosome Species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.42, n.11, p.2858-2863, 1998.

KUBIAK, G.V.L. & MOLFI, A. **Tripanosomíase equina (Mal das Cadeiras)**. Boletim n.33. Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas do Estado do Paraná. Tip. João Haupt & Cia. Ltda. – Curitiba, 51p., 1954.

LUCA, R.R. et al. **Manual para Técnicos em Bioterismo**. 2 ed. São Paulo: Winner Graph, 1996, p. 259.

MAHMOUD, M.M & GRAY, A.R. Trypanosomiasis due to *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) Balbiani, 1888. A review of recent research. **Tropical Animal and Health Production**, v.12, p.35-47, 1980.

MILLER, D.M. et al. The Pharmacokinetics of Diminazene Aceturate after Intramuscular Administration in Healthy Dogs. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.76, n.3, p.146-150, 2005.

MURRAY, M. et al. The nature of immunosuppression in *Trypanosoma brucei* infection in mice I: the role of the macrophage. **Immunology**, v.27, p.815-840, 1974.

OLIVEIRA, T.C.G. Comportamento do *Trypanosoma evansi* (*T. equinum*) em animais de laboratório. **Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia**, v.41, n.4, p.271-277, 1989.

PEREGRINE, A.S. & MAMMAN, M. Pharmacology of Dimenazene: A Review. **Acta Tropical**, Basel, v.54, p.185-203, 1993.

QUEIROZ, A.O. et al. Specific Antibody Levels and Antigenic Recognition of Wistar Rats Inoculated with Distinct Isolates of *Trypanosoma evansi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, n.7, p.965-972, 2001.

RUE, M.L. **Alterações Hematológicas e Bioquímicas em Cães Infectados com *Trypanosoma evansi* (STEEL, 1885) BALBIANI, 1888**, 1996. Dissertação (mestrado). Curso de pós-graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SILVA, F.A.S. & AZEVEDO, C.A.V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.1, p.71-78, 2002.

SILVA, R.A.M.S. et al. Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* Infection in dogs and Horses: Hematological and Clinical Aspects. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, p. 233-238, 1995.

SILVA, R.A.M.S. et al. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* – Biologia Diagnóstico e Controle, EMBRAPA. **On line**. Capturada em 15/01/2005. Disponível na Internet: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/Livro015>, 2002.

SILVA, R.A.M.S. et al. Métodos de Diagnóstico Parasitológico das Tripanossomoses Bovinas e Equinas. **Circular Técnica 41**. EMBRAPA-Corumbá – MS. 3p. 2003.

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.

TABELA 1 – Média das avaliações dos diferentes tratamentos em machos e fêmeas de ratos experimentalmente infectados por *T. evansi* quanto ao período pré-patente e de sobrevivência dos animais a partir do tratamento.

	CONT	OXIT	BENZ	DIMI
Período pré-patente (dias)				
Machos	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	3,0 ^a
Fêmeas	1,0 ^a	1,2 ^a	1,2 ^a	2,0 ^a
Sobrevivência pós-tratamento (dias)				
Machos	Não tratado	3,2 ^b	6,4 ^b	28,8 ^c
Fêmeas	Não tratado	4,6 ^b	13,2 ^b	43,2 ^d

Obs.: As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

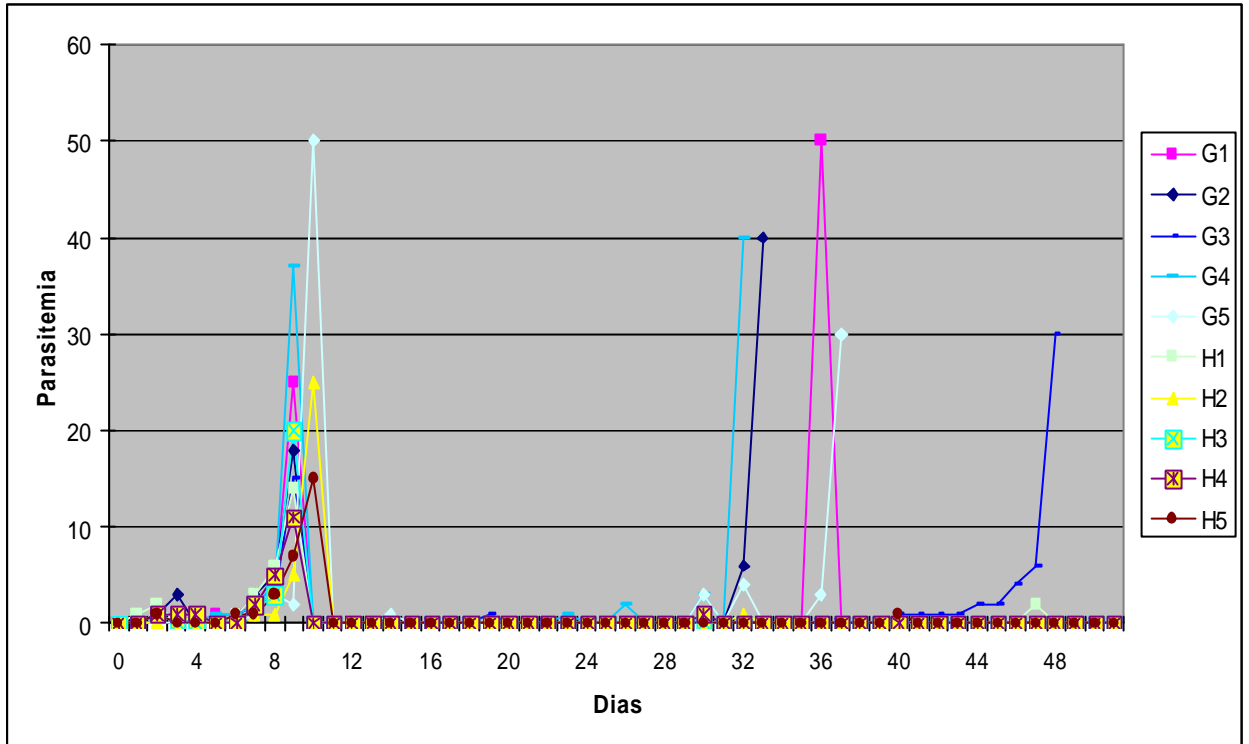
CONT: grupo controle;

OXIT: grupo tratado com oxitetraciclina;

BENZ: grupo tratado com benzonidazol;

DIMI: grupo tratado com aceturato de diminazeno.

GRÁFICO 1 – Variação hemoparasitária durante o tratamento com aceturato de diminazeno em infecção experimental por *T. evansi* em ratos Wistar



Obs.: A parasitemia está expressa em número de tripomastigotas por campo visual de microscópio de luz do esfregaço corado ao aumento de 1000 vezes e a legenda representa a identificação dos ratos tratados com aceturato de diminazeno, onde G representa os ratos machos e H as fêmeas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUINO, L.P.C.T. et al. Aspectos hematológicos, bioquímicos e anatomopatológicos da infecção de *Trypanosoma evansi* em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia**, v.54, n.1, p.8-18, 2002.

BISWAS, D. et al. Histopathology of *Trypanosoma* (Trypanozoon) *evansi* infection in bandicoot rat. I. visceral organs. **Experimental Parasitology**, v.99, n.3, p.148-159, 2001.

BRANDER, G.C. et al. **Veterinary Applied Pharmacology & Therapeutics**. 5 ed. Ballière Tindall, London, 1991.

BRUN, R. et al. *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship (a review). **Veterinary Parasitology**, v.79, p.95-107, 1998.

CROFT, S.L. Pharmacological Approaches to Antitrypanosomal Chemotherapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.94, n.2, p.215-220, 1999.

DÁVILA, A.M.R. et al. Morphological and biometrical differences among *Trypanosoma vivax* isolates from Brazil and Bolivia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.92, p.357-358, 1997.

DIAS, J.C.P. & COURA, J.R. **Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas: Uma abordagem prática para o clínico geral**. Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro, 1997.

ESTANI, S.S. & SEGURA, E.L. Treatment of *Trypanosoma cruzi* Infection in the Undetermined Phase. Experience and Current Guidelines of Treatment in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, supl.I, p.363-365, 1999.

FONSECA, A.H. Disciplina de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. **On Line**. Capturado em 06/11/2005. Disponível na Internet: <http://www.iv.ufrj.br/DPA>.

FOIL, L.D. Tabanids as vectors of disease agents. **Parasitology Today**, v.5, p.88-96, 1989.

GALVÃO-CASTRO, B. et al. The role of the host immune response in the development of tissue lesions associated with African Trypanosomiasis in mice. **Clinical and Experimental Immunology**, v.33, p.12-24, 1978.

HERBERT, C.N. & INGLIS, M.D. Immunization of mice against *Trypanosoma brucei* infections by administration of released antigens absorbed to erythrocytes. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, v.67, p. 268-272, 1973.

HOLWIL, M.G. Deformation of erythrocytes by trypanosomes. **Experimental Cellular Research**, v.37, p.306-311, 1965.

JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia, Lea & Fabinger, 417p. 1993.

JONES, T.W. et al. *Trypanosoma evansi* in the Republic of Indonesia. **Proceedings of the first Internet Conference on Salivarian Trypanosomes**, FAO, Animal Production and Health Paper, n.35, 56p., 1997.

JOSHI, P.P. et al. Human Trypanosomosis Caused by *Trypanosoma evansi* in India: The First Case Report. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.3, n.3, p.491-495, 2005.

JOSHI, P.P. et al. Treatment and follow-up of the first case of human trypanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi* in India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. . Available online 7 February 2006. **On line**. Capturado em 20 de fevereiro de 2006. disponível na Internet: <http://www.sciencedirect.com/science>

KUBIAK, G.V.L. & MOLFI, A. **Tripanossomíase equina (Mal das Cadeiras)**. Boletim n. 33. Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas do Estado do Paraná. Tip. João Haupt & Cia. Ltda. – Curitiba, 51p., 1954.

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

LOSOS, G.J. Diseases caused by *Trypanosoma evansi*, a review. **Veterinary Research Department**, v.4, p.165-181, 1980.

MAHMOUD, M.M & GRAY, A.R. Trypanosomiasis due to *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) Balbiani, 1888. A review of recent research. **Tropical Animal and Health Production**, v.12, p.35-47, 1980.

MILLER, D.M. et al. The Pharmacokinetics of Diminazene Aceturate after Intramuscular Administration in Healthy Dogs. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 76, n. 3, p. 146-150, 2005.

MURRAY, M. et al. The nature of immunosuppression in *Trypanosoma brucei* infection in mice I: the role of the macrophage. **Immunology**, v.27, p.815-840, 1974.

PEREGRINE, A.S. & MAMMAN, M. Pharmacology of Diminazene: A Review. **Acta Tropical**, Basel, v. 54, p.185-203, 1993.

RUE, M.L. **Alterações Hematológicas e Bioquímicas em Cães Infectados com *Trypanosoma evansi* (STEEL, 1885) BALBIANI, 1888**, 1996. Dissertação (mestrado). Curso de pós-graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SÁNCHEZ, M.A. Responsável Técnico Novartis Saúde Animal Ltda. CRMV-SP: 1547. Comunicação pessoal.

SILVA, R.A.M.S. et al. Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* Infection in dogs and Horses: Hematological and Clinical Aspects. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.25, p.233-238, 1995.

SILVA, R.A.M.S. et al. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* – Biologia Diagnóstico e Controle, EMBRAPA. **On line**. Capturada em 15/01/2005. Disponível na Internet: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/Livro015>, 2002.

SILVA, R.A.M.S. et al. Métodos de Diagnóstico Parasitológico das Tripanossomoses Bovinas e Eqüinas. **Circular Técnica 41**. EMBRAPA-Corumbá – MS. 3p. 2003.

TOURANTIER, L. First international seminar on nom Tsétse transmitted animal trypanosomes: conclusions and recomendations. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.** v.12, n.1, p.273-281, 1993.

UCHE, U.E. & JONES, T.W. Protection Conferred by *Trypanosoma evansi* Infection Against Homologus and Heterologus Trypanosome Challenge in Rabbits. **Veterinary Parasitology**, v.52, n.1-2, p.21-35, 1994.

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.

ZWEYGARTH, E. et al. *Trypanosoma brucei*: Diskinetoplasia and loss infectivity after long-term in vitro cultivation. **Acta Tropica**, v.48, n.2, p.95-99, 1990.