

INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Trypanosoma evansi* EM COELHOS

ALEKSANDRO SCHAFFER DA SILVA,¹ MARCIO MACHADO COSTA,¹ ROVAINA LAUREANO DOYLE,²
SÔNIA TEREZINHA DOS ANJOS LOPES³ E SILVIA GONZALEZ MONTEIRO³

-
1. Acadêmico de Graduação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil
2. Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da UFSM, Santa M, RS, Brasil
3. Professor adjunto da Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Faixa de Camobi, Km 9, Campus Universitário, Santa Maria, RS, Brasil
CEP: 97105-900, Prédio 20, Sala 4232. Fax: (55) 3220-8958. Autor para correspondência: sgmonteiro@uol.com.br

RESUMO

Avaliou-se o período pré-patente e a evolução da parasitemia de coelhos infectados experimentalmente por *Trypanosoma evansi*. Dividiram-se coelhos machos, com idade entre dois a seis meses, em quatro grupos (A, B, C, D) com três animais cada. Inocularam-se os coelhos dos grupos A, B e C com *T. evansi* e procedeu-se à avaliação diária, mediante esfregaços sangüíneos periféricos, observando-se que o período pré-patente nos grupos infectados (A, B e C) foi de seis, sete e onze dias, respectivamente. Infectaram-se os animais do grupo A com *T. evansi* e *Eimeria* spp. e eles tiveram uma longevidade de 56 dias após

o início do trabalho. Já os animais do grupo B, infectados com *T. evansi* e tratados com coccidiostático, apresentaram longevidade semelhante ao grupo C, que continha coelhos parasitados somente por *T. evansi*. Nesses dois grupos a parasitemia manteve-se com picos irregulares em variações de zero a cinco tripomastigotas/campo por até 89 dias após a inoculação, desaparecendo da circulação após 90 dias. Os coelhos do grupo D, grupo-controle, não foram infectados. Os animais dos grupos B, C e D foram sacrificados após 120 dias do início do experimento.

PALAVRAS-CHAVES: Coelho, parasitemia, *Trypanosoma evansi*.

ABSTRACT

EXPERIMENTAL INFECTION BY *Trypanosoma evansi* IN RABBITS

This work had the aim to evaluate the pre-patent period and the evolution of the parasitemy of rabbits experimentally infected by *Trypanosoma evansi*. Male rabbits from two to six months were divided in four groups of three animals each (A, B, C, D). Group A, B and C rabbits were infected with *T. evansi* and evaluated daily through peripheral blood smears. The daily analyses showed a pre-patent period in the infected groups (A, B and C) of six, seven and 11 days, respectively. Animals from group A, infected by *T. evansi* and *Eimeria* spp., had a longevity of 56 days after the start of the experiment.

The animals from group B which were infected by *T. evansi* and received coccidiostatic treatment presented longevity similar to group C, that were formed by rabbits parasitized only by *T. evansi*. In both groups the parasitemy had irregular peaks ranging from zero to five trypomastigotes/field until 89 days after the inoculation, disappearing of the blood circulation after 90 days. Rabbits from group D, control group, were not infected. Animals from groups B, C and D were sacrificed 120 days after the start of the experiment.

KEY WORDS: Parasitemy, rabbit, *Trypanosoma evansi*.

INTRODUÇÃO

Trypanosoma evansi é o agente etiológico da doença conhecida como mal das cadeiras em eqüinos, causadora de grandes perdas econômicas ao setor pecuário. No Brasil, é muito freqüente na região do Pantanal Mato-Grossense, comumente em reservatórios silvestres, como capivaras, quatis, pequenos roedores e em animais domésticos como cão, eqüinos e suínos (SILVA et al., 2002; HERRERA et al., 2004).

Os tripanossomas são protozoários flagelados, digenéticos. Seu ciclo vital envolve dois hospedeiros. As formas tripomastigotas do *T. evansi* presentes nos vasos sangüíneos de mamíferos são adquiridas pelo inseto durante repasto sangüíneo (SILVA et al., 2002). Vários gêneros de dípteros hematófagos (Tabanídeos) têm sido considerados vetores desse hemoparasita (JONES et al., 1997). Entretanto, pode haver infecção natural por este protozoário, mediante via oral em cães, a partir da ingestão de sangue em brigas entre animais infectados e não infectados (HERRERA et al., 2004).

A infecção por *Trypanosoma evansi* em coelhos apresenta diferenças claras, pois a parasitemia e os sinais clínicos da doença não ocorrem em todos os animais que entram em contato direto com o parasito (UCHE et al., 1992). Assim, apresenta-se neste trabalho uma avaliação do período pré-patente e a evolução da parasitemia por *Trypanosoma evansi* em coelhos infectados experimentalmente.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), nos meses de agosto de 2005 a março de 2006. Utilizou-se uma cepa do *T. evansi* oriunda de um cão naturalmente infectado do município de Uruguaiana, RS (COLPO et al., 2005), mantida em laboratório sob cultura viva em *Rattus norvegicus*.

Doze coelhos (Nova Zelândia) machos, com idade entre dois a seis meses foram divididos em quatro grupos (A, B, C, D), mantidos em tempe-

ratura e umidade controlada (22°C e 60% UR) e alimentados com ração comercial e água *ad libitum*. Inocularam-se os coelhos dos grupos A e B – naturalmente parasitados com *Eimeria* sp. – com *T. evansi* via intra peritoneal. Infectaram-se esses grupos com 0,5ml de sangue oriundo de ratos, isto é, uma concentração de 10^6 tripomastigotas/ml. Inoculou-se o grupo C com 0,5ml de sangue oriundo de um coelho, na concentração de 10^4 tripomastigotas/ml, ambas as espécies contaminadas com *T. evansi*. Inocularam-se os coelhos do grupo D, grupo-controle, com 0,5ml de água destilada. Após 35 dias da infecção, os animais do grupo B foram tratados com anticocidiano (sulfa + trimetropim) para avaliação da parasitemia após a medicação.

Analisaram-se todos os animais dos grupos A, B e C quanto ao período pré-patente (período desde a inoculação até a detecção dos parasitas na circulação periférica) e evolução da parasitemia (presença da forma tripomastigota na circulação) causada pelo *T. evansi*. Obtiveram-se os dados por meio de pesquisa microscópica em esfregaço sangüíneo, realizada diariamente após a inoculação. A técnica consiste na desinfecção da região auricular com algodão embebido em álcool iodado e perfuração da pele com agulha hipodérmica estéril. Coletou-se uma gota de sangue diretamente sobre uma lâmina de vidro para a confecção do esfregaço sangüíneo, sendo corado com Panóptico Rápido® e levado ao microscópio óptico para pesquisa dos hemoparasitas ao aumento de 1.000 vezes (SILVA et al., 2006).

Os animais do grupo A foram avaliados até a morte e os coelhos dos grupos B, C e D por 120 dias, sendo sacrificados e necropsiados segundo a técnica descrita por LUCA et al. (1996) e OLIVEIRA et al. (2002). Fez-se a análise estatística dos dados por meio da análise de variância (ANOVA), seguida por aplicação do teste de TUKEY para comparação entre as médias (SILVA & AZEVEDO, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os coelhos do grupo A, B e C infectados com *T. evansi* apresentaram período pré-patente

entre 6, 7 e 11 dias, respectivamente (TABELA 1). Essa diferença entre grupos pode estar relacionada à imunidade dos animais em relação ao maior número de anticorpos capacitados a destruir o *T. evansi*, segundo UCHE et al. (1992). Conforme literatura, o período pré-patente pode apresentar uma variação de sete a dez dias após inoculação (KUBIAK & MOLFI, 1954), dados esses semelhantes aos deste estudo. Entretanto, é possível que esse período oscile entre trinta a noventa dias em coelhos, segundo STURA (apud KUBIAK & MOLFI, 1954).

A parasitemia dos animais do grupo A manteve-se entre zero e seis tripanossomas por campo em picos irregulares até 45 dias após a inoculação (FIGURA 1). O número de tripanossomas na circulação teve aumento crescente a partir do período citado anteriormente, chegando a 18 protozoários/campo nos animais na última análise do sangue periférico antes da morte natural aos 56 dias (TABELA 1). Nos animais desse grupo observou-se alta infecção por *Eimeria* sp. (mais de 300 oocistos/lâmina), em que a infecção simultânea com *T. evansi* pode ter sido a causa morte dos animais, em virtude da imunossupressão (CHRISTENSEN et al., 1987). Isso foi verificado nos coelhos do grupo B que, após o tratamento para coccidiose, apresentaram redução da parasitemia por tripanossomas e posterior recuperação (Figura 1).

TABELA 1. Média do período pré-patente, período de parasitemia e longevidade dos animais infectados experimentalmente com *Trypanosoma evansi*.

Grupo	Período pré-patente (dias)	Período de parasitemia (dias)	Longevidade* (dias)
A	6 ^b	50 ^b	56 ^b
B	7 ^b	76 ^a	120 ^a
C	11 ^a	78 ^a	120 ^a
D	0 ^c	0 ^c	120 ^a

Obs.: Média seguida por letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade do teste de TUKEY. *Os animais dos grupos B, C e D foram sacrificados, apesar de não apresentarem o parasita na circulação.

Os coelhos do grupo B mantiveram a parasitemia entre 0-3 tripanossomas/campo em oscilações freqüentes até 20 dias da inoculação. Após esse intervalo, o número de protozoários aumentou gradativamente, chegando à parasitemia de 15 tripomastigotas por campo em microscópio de luz (1000x). Cinco dias depois do tratamento para eimeriose os animais desse grupo apresentaram a redução na parasitemia por *T. evansi*, mantendo-se entre 0-4 tripanossomas/campo até 83 dias após inoculação, não sendo mais encontrados na circulação a partir dessa data (FIGURA 1).

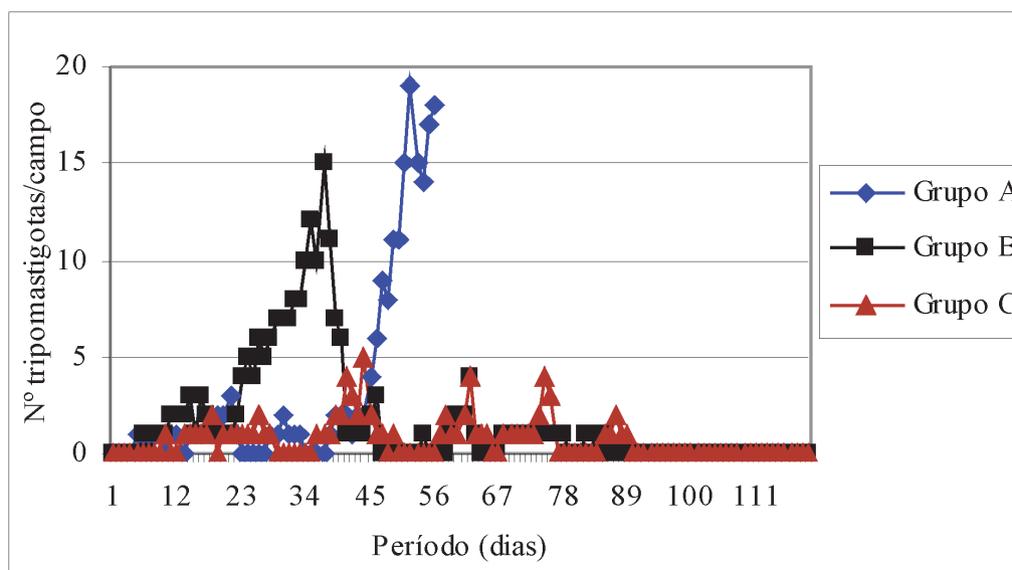


FIGURA 1. Evolução da parasitemia por *T. evansi* em coelhos experimentalmente infectados.

Em animais domésticos utilizados como modelos experimentais é importante observar as interações de infecção simultânea de parasitos, o que pode levar à sua imunossupressão (CHRISTENSEN et al., 1987). Na comparação dos três grupos infectados, observou-se interferência da infecção simultânea pelos protozoários, sendo que a longevidade dos animais do grupo A foi inferior à dos coelhos dos grupos B e C, que apresentavam somente infecção pelo *T. evansi* no final do experimento.

No grupo C, os animais mantiveram uma parasitemia oscilante entre zero e cinco protozoários por campo até 89 dias após a inoculação dos animais. Depois desse período, não apresentaram mais o hemoparasita na circulação (FIGURA 1), o que pode ser explicado, segundo UCHE et al. (1992), pelo fato de os coelhos possuírem anticorpos contra o *T. evansi* adquiridos a partir de uma infecção progressiva pelo protozoário. Isso leva ao surgimento de animais tolerantes a esse parasita, pela resistência à infecção. Em cobaias também se observou uma infecção característica ocorrida nos coelhos deste estudo, com parasitemia instável e picos irregulares, além de maior longevidade (OLIVEIRA et al., 1989). Segundo GILL (1965), isso se deve a maior produção de anticorpos pelos cobaias, sendo talvez esta a razão de serem mais resistentes à infecção.

Com a infecção experimental por *T. evansi*, observou-se que os coelhos apresentaram resistência à doença e a cura após 90 dias do início do experimento. No entanto, com baixa da imunidade, por causa de outros fatores como a eimeriose, eles podem sofrer com a enfermidade. Este estudo sugere que coelhos domésticos possam ser reservatórios do *T. evansi*, assim como capivaras e quatis (NUNES et al., 1993; HERRERA et al., 2004), além de coelhos selvagens. Outro dado importante obtido com este estudo refere-se ao fato de que coelhos não são bom modelo experimental para estudos de ondas seqüenciais de parasitemia ocasionado por este protozoário, diferentemente de outras espécies de animais, como cavalos, cães, ratos e camelos (SILVA et al., 2002).

REFERÊNCIAS

CHRISTENSEN, N.O.; NANSEN, P.; FAGBMI, B.O.; MONRAD, J. Heterologous antagonistic and synergistic interactions between helminths and between helminths and protozoans in concurrent experimental infection of mammalian hosts. **Parasitology Research**, v. 73, n. 5, p. 387-340, 1987.

COLPO, C.B.; MONTEIRO, S.G.; STAINKI, D.R.; COLPO, T.B.; HENRIQUES, G.B. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cão no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n.3, p.717-719, 2005.

GILL, B.S. Studies on protective immunity of *Trypanosoma evansi*. **Journal of Comparative Pathology**, New York, v. 75, p.233-240, 1965.

HERRERA, H.M.; DAVILA, A.M.; NOREK, A.; ABREU, U.G.; SOUZA, S.S.; D'ANDREA, P.S.; JANSEN, A.M. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, London, v.125, n.3-4, p.263-275, 2004.

JONES, T. W.; PAYNE, R. C.; SUKANTO, I. P.; PARTOUTOMO, S. *Trypanosoma evansi* in the Republic of Indonesia. Proceedings of the first Internet Conference on Salivarian Trypanosomes, FAO, Animal Production and Health Paper, n.135, p. 56, 1997. *Online*. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/W5781E/w5781e05.htm>> . Acesso em: 19 jan. 2006.

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

LUCA, R. R.; ALEXANDRE, S. R.; MARQUES, T.; SOUZA, N.L.; MOUSSE, J.L.B.; NEVES, P. **Manual para técnicos em bioterismo**. 2 ed. São Paulo: Winner Graph, 1996.

NUNES, V. L. B.; OSHIRO, E. T.; DORVAL, M. E. C.; GARCIA, L. A. M.; SILVA, A. A. P.; BOGLIOLO, A. R. Investigação epidemiológica sobre *Trypanosoma* (Trypanozoon) *evansi* no Pantanal Sul-Mato-Grossense. Estudo de Reservatórios. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v.2, n.1, p.41-44, 1993.

OLIVEIRA, H. P.; ALVES, G. E. S.; REZENDE, C. M. F. Eutanásia em Medicina Veterinária. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. *Online*. Dispo-

nível em: <http://www.ufmg.br/coep/eutanasia.pdf>, 2002. Acesso em: 15 mar. 2006

OLIVEIRA, T. C. G.; MENEGUIN, J. M.; PEREIRA, E. A. Comportamento da *Trypanosoma evansi* (*T. equinum*) em Animais de Laboratório. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Brasil, v. 41, n. 4, p. 271-277, 1989.

SILVA, A. S.; DOYLE, R. L.; MONTEIRO, S. G. Métodos de contenção e confecção de esfregaço sanguíneo para pesquisa de hemoparasitas em ratos e camundongos. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 13, n. 2, p. 83-87, 2006.

SILVA, F. A. S., AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Win-

dows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle (EMBRAPA). *Online*. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/Livro015>, 2002>. Acesso em: 15 jan. 2005.

UCHE, U. E.; JONES, T. W.; BOID, R. Antibody patterns in rabbits showing different levels of susceptibility to an experimental *Trypanosoma evansi* infection. **Acta Tropica**, London, v. 52, p. 139-147, 1992.

Protocolado em: 29 maio 2006. Aceito em: 2 jul. 2007.