

Métodos de Diagnósticos Parasitológicos das Tripanosomoses Bovinas e Eqüinas.

As hemoparasitoses constituem enfermidades amplamente distribuídas em toda a América Latina e Caribe causando efeitos negativos na saúde dos rebanhos animais e principalmente sobre a produção e rentabilidade dos sistemas de produção animal estabelecidos nas diferentes regiões do continente (Tamasaukas, 2000). Dentre os hemoparasitos que causam importantes enfermidades nos animais domésticos e silvestres na América do Sul, destacam-se os *Trypanosoma evansi* e *T. vivax*.

O *Trypanosoma evansi* foi o primeiro tripanosoma patogênico descoberto (Fig. 1). A surra, como é conhecida a doença na Índia causada pelo *T. evansi*, tem sido observada desde há muitos séculos, porém somente em 1880 Griffith Evans descobriu organismos móveis semelhantes a espirilos no sangue de cavalos e camelos doentes. Evans descreveu parasitas em esfregaços frescos e os reconheceu como sendo protozoários. Evans acreditou que a fonte primária da infecção dos cavalos fossem as águas poluídas (Hoare, 1972). A tripanosomose causada pelo *T. evansi* tem uma distribuição geográfica extremamente ampla. Ela ocorre no norte da África, Índia, Malásia, Indonésia, China, Rússia, Filipinas, América Central e América do Sul. Os hospedeiros domésticos mais freqüentemente parasitados são os camelos, cavalos, burros, bovinos, zebuínos, caprinos, suínos, cães e búfalos. No Pantanal o *T. evansi* causa tripanosomose eqüina também conhecida como "mal de cadeira". É uma das doenças causadas por protozoários mais importantes do Pantanal (Silva et al., 1995a, Silva et al., 1995b). O *T. evansi* pode infectar uma grande variedade de mamíferos.

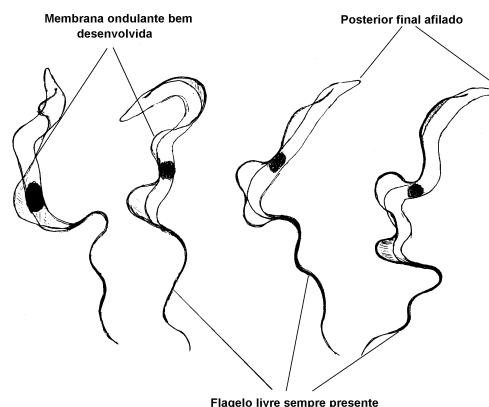


Fig. 1. *Trypanosoma evansi* encontrado no sangue de cavalos naturalmente infectados no Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil.

O *T. vivax* é o responsável pela tripanosomose, principalmente em, bovinos e outros ruminantes (Fig. 2). Os cães e suínos são refratários ao mesmo. O *T. vivax* é encontrado em toda a área ocupada pela mosca tsé-tsé na África. No Oeste da África o *T. vivax* é considerado o mais patogênico e importante tripanosoma dos bovinos. Ele se expandiu para outras áreas da África e América Central, América do Sul e Caribe. A primeira ocorrência do *T. vivax* nas Américas, foi na Guiana Francesa em 1919 e mais tarde em outros países da América do Sul, Central, e algumas ilhas do Caribe. Em 1995 o *T. vivax* foi registrado no município de Poconé localizado no norte do Pantanal (Silva et al., 1996, Silva et al., 1997, Silva et al., 1998), posteriormente ele foi encontrado em outros municípios do estado de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. A tripanosomose bovina causada pelo *T. vivax* pode afetar a saúde animal e produtividade. O objetivo deste trabalho foi descrever os métodos parasitológicos utilizados no Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Pantanal. Vários métodos parasitológicos têm sido usados para diagnóstico e estudos epidemiológicos. Dentre eles os principais são: caracteres diagnósticos, método do "aspirado" do linfonodo, técnica da gota espessa, técnica do esfregaço, técnica Woo do microhematócuto e inoculação em camundongo.

Corumbá, MS
Dezembro, 2003

Autores

Roberto Aguilar M. S. Silva,
MSc. Pesquisador
Embrapa Pantanal
Rua 21 de Setembro, 1880,
CEP 79320-900
rsilva@cpap.embrapa.br

Valdete Sanchez
BSc., Assistente de
Operações, Embrapa Pantanal
valdete@cpap.embrapa.br

Alberto M. R. Dávila,
PhD, FIOCRUZ
Av. Brasil 4365
Rio de Janeiro, RJ, Brasil
CEP 21045-900
davila@ioc.fiocruz.br

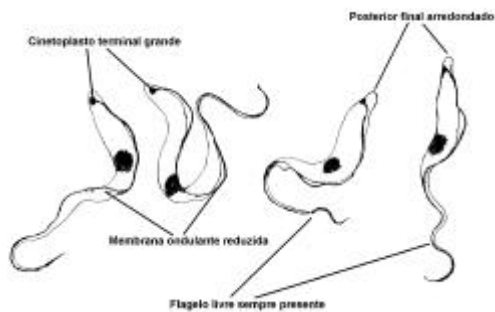


Fig. 2. *Trypanosoma vivax* encontrado no sangue de bovinos naturalmente infectados no Pantanal de Poconé, MT, Brasil.

Caracteres Diagnósticos

A característica mais importante é a estrutura geral das formas sanguíneas reveladas em preparações coradas e examinadas através da microscopia ótica. Várias espécies de tripanosoma podem diferir no tamanho e forma do corpo, na posição do núcleo e cinetoplasto, bem como no grau do desenvolvimento da membrana ondulante e do flagelo. Alguns índices são úteis para definir a posição do núcleo e do cinetoplasto. Um desses índices é o índice nuclear (N.I.). O NI representa a razão da distância do final da extremidade posterior para o núcleo e do núcleo para o final da extremidade anterior (PN/NA). Quando o NI= 1, o núcleo está no meio do corpo. Quando é < 1, está na metade posterior e quando é > 1, está na metade anterior. O índice cinetoplástico (K.I.) se obtém dividindo a distância desde o final da extremidade posterior ao núcleo (PN) pela distância desde o cinetoplasto ao núcleo (KN). Se o KI é menor que 2, o cinetoplasto está no meio dos dois, e se é maior que 2 o cinetoplasto está próximo ao núcleo (Fig. 3).

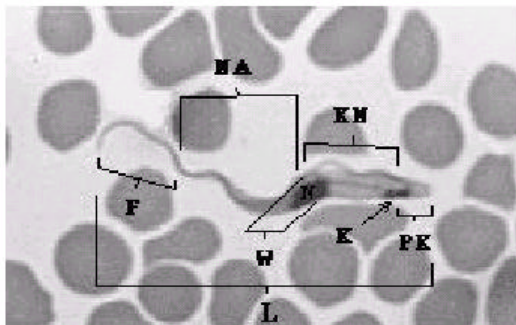


Fig. 3. Medidas dos tripanosomas. L: Comprimento total (incluindo o flagelo livre); PK: Distância do final da extremidade posterior ao cinetoplasto; KN: do cinetoplasto ao meio do núcleo; PN: do final da extremidade posterior ao meio do núcleo; NA: do meio do núcleo ao final da extremidade anterior; F: comprimento do flagelo livre; K: Cinetoplasto. *Trypanosoma vivax*: forma tripomastigota em sangue de bovino (surto ocorrido no Pantanal do Poconé, 1995)

Método do "aspirado" do linfonodo (MAL)

O linfonodo mais fácil de manipular em bovinos é o pré-escapular. Utilizar uma seringa de 2ml com uma agulha Nº 21 G X de 1 ½ polegadas, contendo 1 ml de soro fisiológico estéril. Localiza-se o linfonodo pré-escapular e desinfetar a zona com álcool ou com iodo, deixar secar. Fixar o linfonodo entre os dedos índice e polegar, com a mão livre pegar o sistema seringa-agulha e introduzir a agulha no linfonodo até a metade do seu comprimento. Injetar o soro contido na seringa. Logo após, segurando ainda o linfonodo retirar o soro injetado, obtém-se um líquido misturado com sangue, mas nunca se obtém 100 % do volume injetado. Com o líquido obtido preparar esfregaços grossos, os quais serão corados pelo método de Giemsa após fixação com álcool metílico.

Método da gota espessa (MGE)

Para este método deve-se usar sangue periférico. Colocar uma pequena gota de sangue sobre uma lâmina, com um palito agita-se por meio de movimentos circulares, esticando a gota de maneira que fique com um diâmetro de 6 mm. Assim, uma vez hemolisado o sangue, colocar na estufa a 100 °C durante 30 minutos. Logo em seguida corar com Giemsa sem precisar de fixar em álcool. O tripanosoma fica livre de eritrócitos, observando-se unicamente glóbulos brancos e plaquetas ao redor dele.

Método do esfregaço Sanguíneo (MES)

Colocar uma gota do sangue numa lâmina a uma distância de aproximadamente 2-3 cm de um lado final. A gota é espalhada na lâmina até o lado final oposto, isto é feito empurrando a gota com outra lâmina, num ângulo de 45 °. São recomendáveis esfregaços de camada fina, pois facilitam a leitura ao apresentarem células mais dispersas.

Método do Microhematócrito ou Método de Woo (MME) e Método do "Buffy Coat"(MBC)

Método desenvolvido por P.T.K Woo na década de 70 (Woo, 1971a, 1971b). Preencher aproximadamente 2/3 do volume de cada capilar com o sangue a ser testado. É recomendável montar dois capilares por cada amostra de sangue. Selar com chama ou com plastilina numa das extremidades. Centrifugar e logo em seguida realizar a leitura. Para o Buffy Coat pode se montar uma lâmina, quebrando cada capilar na parte onde se divide a parte líquida com a parte celular, colocando assim uma ou duas gotas deste material numa lâmina e fazendo logo o esfregaço.

Método da inoculação em camundongo (MIC)

A inoculação em camundongo se faz geralmente por via intraperitoneal mas também pode ser feita por via intramuscular. O inóculo de sangue infectado é de aproximadamente 0,20 ml. Os camundongos mais usados são os de linhagem Swiss (suiços) e Balb/C.

Conclusões

Baseados na prática laboratorial e em dados da literatura concluímos que os métodos mais sensíveis foram os MIC, MME e MBC e (Monzón et al., 1990).

Recomendações

Os métodos MME, MBC e MIC são os propostos como a combinação mais efetiva. Sendo que o primeiro e o segundo são os mais empregados com boa confiabilidade e mais recomendados para o diagnóstico a campo. Os caracteres diagnósticos deverão ser sempre utilizados para a comprovação da espécie do parasita independentemente do método diagnóstico utilizado.

Referências Bibliográficas

HOARE, C. A. *The trypanosomes of mammals*. Oxford: Blackwell, 1972. 749 p.

SILVA, R. A. M. S.; BARROS, A. T.M.; HERRERA, H. M. Trypanosomosis outbreaks due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil. A preliminary approach on risk factors. *Revue D'Élevage Médecine Vétérinaires Pays Tropicaux*, Paris, v.48, n.4, p.315-319, 1995a.

SILVA, R. A. M. S.; AROSEMENA, N. A. E.; HERRERA, H. M.; SAHIB, C. A.; FERREIRA, M. S. J. Outbreak of trypanosomosis due to *Trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-grossense, Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.60, p.167-171., 1995b

SILVA, R. A. M. S.; SILVA, J. A. da; SCHNEIDER, R.C.; FREITAS, J. de; MESQUITA, D.; MESQUITA, T.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R.; PEREIRA, M. E. B. Outbreak of Trypanosomiasis Due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in Bovines of the Pantanal, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.5,p.561-562, 1996.

SILVA, R. A. M. S.; MORALES, G.; EULERT, E.; MONTENEGRO, A.; YBAÑEZ, R. Outbreaks of trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in bovines of Bolivia. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.76, 153-157, 1997.

SILVA, R. A. M. S.; EGÜEZ, A.; MORALES, G.; EULERT, E.; MONTENEGRO, A.; YBAÑEZ, R.; SEIDL, A.; DÁVILA, A. M. R.; RAMIREZ, L. Bovine trypanosomiasis in Bolivian and Brazilian lowlands. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.93, n.1, p.329-321,1998.

TAMASAUKAS, R.; AGUIRRE, A.; RON, J.; ROA, N.; COBO, M. Tetralogia hemoparasitaria en algunas fincas bovinas del municipio Santa Rita, estado Guárico, Venezuela. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias. UCV*, Maracay, v.41, n.4, p.101-108. 2000.

WOO, P. T. K. Evaluation of the haemataocrit centrifuge and other techniques for the field diagnosis of human trypanosomiasis and filariasis. *Acta Tropica*, Basel, v.28, p.298-303, 1971a.

WOO, P. T. K. A technique for the parasitological diagnosis of African trypanosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, London, v.65, p.249- 250, 1971b.

Circular Técnica, 41

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Pantanal
Endereço: Rua 21 de Setembro, 1880
Caixa Postal 109
CEP 79320-900 Corumbá, MS
Fone: 67-2332430
Fax: 67-2331011
Email: sac@cpap.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2003): formato digital

Comitê de Publicações

Presidente: Aiesca Oliveira Pellegrin
Secretário-Executivo: Marco Aurélio Rotta
Membros: Balbina Maria Araújo Soriano
Evaldo Luis Cardoso da Silva
José Robson Bezerra Sereno
Regina Célia Rachel dos Santos

Expediente

Supervisor editorial: Marco Aurélio Rotta
Revisão de texto: Mirane dos Santos Costa
Tratamento das ilustrações: Regina Célia R. Santos
Editoração eletrônica: Regina Célia R. Santos
Elcio Lopes Sarath