

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**LISIANE GOLOMBIESKI**

**PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *TRYPANOSOMA***  
***EVANSI* EM EQUINOS DA RAÇA CAMPEIRO**

**LAGES**

**2021**

**LISIANE GOLOMBIESKI**

**PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR  
*TRYPANOSOMA EVANSI* EM EQUINOS DA RAÇA CAMPEIRO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciência Animal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Joandes Henrique Fonteque.

**LAGES**

**2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com  
auxílio do programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC

Golombieski, Lisiane

Prevalência e Fatores Associados à Infecção por *Trypanosoma evansi* em Equinos da Raça Campeiro / Lisiane Golombieski. -- 2021.

50 p.

Orientador: Joandes Henrique Fonteque

Coorientador: Luiz Claudio Milette

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2021.

1. Tripanossomose. 2. Surra. 3. Raça localmente adaptada. 4. Hemoparasito. I. Fonteque, Joandes Henrique . II. Milette, Luiz Claudio . III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.

**LISIANE GOLOMBIESKI**

**PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR  
*TRYPANOSOMA EVANSI* EM EQUINOS DA RAÇA CAMPEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração em Saúde Animal.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Joandes Henrique Fontequê

CAV/UDESC

Membros:

---

Profa. Dra. Ana Karina Couto Hack

CAV/UDESC

---

Profa. Dra. Fernanda Carlini Cunha dos Santos

UFRR

Lages, 09 de dezembro de 2021.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, pela dádiva da vida, e por nunca me faltar nada, inclusive forças nos momentos de maiores dificuldades. Em segundo lugar, à minha mãe, Julia Modrak Golombieski, mulher mais forte e guerreira que eu conheço, meu maior exemplo, e meu pai, Pedro Golombieski, por sempre me incentivarem a correr atrás dos meus objetivos, e a não desistir. Aos demais familiares e amigos, pelo apoio e compreensão nos momentos em que me fiz ausente.

Agradeço também à Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) pela oportunidade, bem como a todos seus professores, por todo o conhecimento passado e por toda a paciência com os alunos, e a todos os demais funcionários, pois sem eles nada aconteceria. Ao meu orientador, Prof. Dr. Joandes Henrique Fontequê, e meu coorientador, Prof. Dr. Luiz Claudio Miletto, por me guiarem até aqui da melhor maneira possível.

À Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Campeiros (ABRACCC) e aos proprietários dos animais utilizados no estudo, pela colaboração e disponibilidade para a realização deste trabalho.

Aos bolsistas Gianluca S. N. Ribeiro e Isabella R. Guzatti, que me auxiliaram nas coletas a campo. À equipe do Laboratório de Patologia Clínica, prof. Dra. Mere E. Saito, Msc. Adson Costa, M.V. Denilson R. Soares, Msc. Mariana da Silva Casa. A todo o pessoal do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, pelas amizades construídas nesse período, e em especial a doutoranda Msc. Gabriela Bassi das Neves, M.V. Amanda Ungri e as bolsistas Julia Marques e Brenda G. Ribeiro, que não mediram esforços para me auxiliar no processamento das amostras.

À minha amiga Jéssyca Padilha, que me deu apoio durante todo o período, me dando estadia, conselhos, conforto nos momentos de dificuldade, me ajudando a tornar mais leve a jornada.

“O segredo do sucesso é a constância do propósito”.  
Benjamin Disraeli

## RESUMO

O cavalo Campeiro é uma raça localmente adaptada à região do planalto catarinense e tem como sua principal característica a marcha, por isso é conhecida como “Marchador das Araucárias”. É uma raça considerada em risco de extinção, sendo fundamental a busca por preservação desse importante recurso genético. Entre as doenças que afetam equinos, está a tripanossomose, conhecida também como “surra”, ou “mal das cadeiras”, causada pelo protozoário *Trypanosoma evansi*. Porém, não existem dados epidemiológicos sobre a prevalência da infecção em equinos da raça Campeiro. O objetivo desse trabalho foi determinar a prevalência de *T. evansi* em equinos da raça Campeiro clinicamente saudáveis, e associar a achados hematológicos e bioquímicos, bem como identificar possíveis fatores de risco. Foram realizadas colheitas de sangue por venopunção da veia jugular de 214 equinos da raça Campeiro, 50 machos e 164 fêmeas, de idades entre três meses e 27 anos, de 16 propriedades localizadas no estado de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná. Para análise dos fatores associados foi realizado um questionário epidemiológico com os proprietários. As amostras de sangue foram submetidas a PCR, RIFI, hemograma e bioquímica sérica. A prevalência foi de 14% de animais positivos na PCR, e 59% na RIFI. Observou-se aumento no hematócrito, aumento no número de basófilose diminuição do fibrinogênio plasmático, redução da atividade enzimática da ALT, AST e ureia, e aumento da CK e creatinina nos animais positivos, o que possivelmente não possui relação com a infecção. Os dados obtidos por meio dos questionários epidemiológicos não apresentaram diferença. Conclui-se que o *T. evansi* está presente na região Sul do país, com alta prevalência em equinos da raça Campeiro.

**Palavras chave:** raça localmente adaptada, tripanossomose, surra, hemoparasita.

## ABSTRACT

The Campeiro horse is a breed locally adapted to the Santa Catarina plateau region and its main characteristic is the gait, which is why it is known as “Marchador das araucarias”. It is a breed considered to be at risk of extinction, and the search for preservation of this important genetic resource is essential. Among the diseases that affect horses is trypanosomiasis, also known as “surra”, or “mal of the chairs”, caused by the protozoan *Trypanosoma evansi*. However, there are no epidemiological data on the prevalence of infection in Campeiro horses. The objective of this study was to determine the prevalence of *T. evansi* in clinically healthy Campeiro horses, and to associate it with hematological and biochemical findings, as well as to identify possible risk factors. Blood samples were collected by jugular vein venipuncture from 214 Campeiro horses, 50 males and 164 females, aged between three months and 27 years, from 16 properties located in the state of Santa Catarina, Rio Grande do Sul and Paraná. To analyze the associated factors, an epidemiological questionnaire was carried out with the owners. Blood samples were submitted to PCR, IFAT, blood count and serum biochemistry. The prevalence was 14% of positive animals in PCR, and 59% in RIFI. There was an increase in hematocrit, an increase in the number of basophilosis, a decrease in plasma fibrinogen, a reduction in the enzymatic activity of ALT, AST and urea, and an increase in CK and creatinine in the positive animals, which is possibly not related to the infection. The data obtained through the epidemiological questionnaires showed no difference. It is concluded that *T. evansi* is present in the southern region of the country, with a high prevalence in Campeiro horses.

**Key words:** locally adapted breed, trypanosomosis, spanking, hemoparasite.



## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1.** Número de casos positivos e negativos diagnosticados pelos métodos PCR e RIFI para o agente *T. evansi*, equinos da raça Campeiro, nos estados de Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.....39

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Prevalência de *T. evansi* em equinos da raça Campeiro nos estados de Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, pelas técnicas de PCR e RIFI.....39
- Tabela 2.** Prevalência de *T. evansi* em equinos da raça Campeiro em machos e fêmeas, pelas técnicas de PCR e RIFI. ....39
- Tabela 3.** Prevalência de *T. evansi* em equinos da raça Campeiro e conforme a idade, divididos em jovens, adultos e idosos pelas técnicas de PCR e RIFI.....40
- Tabela 4.** Valores médios e desvios-padrão do hemograma, concentração de proteína total plasmática e fibrinogênio plasmático de 214 animais da raça Campeiro, positivos e negativos para a infecção natural por *Trypanosoma evansi* nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, Brasil.....40
- Tabela 5.** Valores médios e desvios-padrão da bioquímica sérica de 214 animais da raça Campeiro, positivos e negativos para a infecção natural por *Trypanosoma evansi* nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.....41
- Tabela 6.** Fatores avaliados nos questionários epidemiológicos realizados com proprietários de equinos da raça Campeiro, positivos e negativos para infecção natural por *T. evansi*, nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.....42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DNA	Ácido Desoxirribonucleico
CATT	Aglutinação em cartão
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
ABRACCC	Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Campeiro
CETEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CEPSH	Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
CHCM	Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média
CK	Creatina Quinase
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
FA	Fosfatase Alcalina
GGT	Gamaglutamiltransferase
g	Grama
°C	Graus Celsius
Hb	Hemoglobina
kg	Kilograma
LDH	Lactato Desidrogenase
®	Marca registrada
µg	Micrograma
µm	Micrometro
µL	Microlitro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
m	Metro
M	Molar
mM	Molaridade
ng	Nanograma
PTP	Proteína Total Plasmática
%	Por cento
pb	Pares de Base
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase

RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
U	Unidade
VCM	Volume Corpuscular médio

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 HIPÓTESES.....	18
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
4.1 CAVALO CAMPEIRO.....	19
4.2 TRIPANOSSOMOSE.....	20
4.2.1 Etiologia.....	20
4.2.2 Epidemiologia.....	21
4.2.3 Transmissão.....	22
4.2.4 Patogenia e sinais clínicos.....	23
4.2.5 Hematologia e bioquímica.....	24
4.2.6 Diagnóstico.....	25
4.2.7 Tratamento.....	26
5 REFERÊNCIAS.....	27
6 PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR Trypanosoma evansi EM EQUINOS DA RAÇA CAMPEIRO.....	31
6.1 INTRODUÇÃO.....	32
6.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
6.2.1 Determinação do tamanho amostral.....	33
6.2.2 Obtenção das amostras.....	33
6.2.3 Fatores associados.....	34
6.2.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).....	34
6.2.4.1 Extração de DNA.....	34
6.2.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).....	35
6.2.5 Imunofluorescência Indireta (RIFI).....	36
6.2.5.1 Obtenção do antígeno.....	36
6.2.5.2 Teste de Imunofluorescência Indireta.....	36
6.2.6 Hematologia.....	37
6.2.7 Bioquímica sérica.....	37
6.2.8 Análise estatística.....	38

6.2.9 Comitê de ética.....	38
6.3 RESULTADOS.....	38
6.3.1 Prevalência.....	38
6.3.2 Hematologia e bioquímica.....	40
6.3.3. Fatores associados à infecção.....	42
7. DISCUSSÃO.....	45
8. CONCLUSÃO.....	47
9. REFERÊNCIAS.....	47
ANEXO I .....	51
ANEXO II .....	54
ANEXO III .....	55

## 1 INTRODUÇÃO

O cavalo Campeiro, raça localmente adaptada à região do planalto catarinense, chegou ao Brasil por meio das expedições espanholas, como a de Alvar Nuñez, conhecido como “Cabeça de Vaca”, em março de 1541 (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018). A raça, conhecida como “Marchador das Araucárias”, adquiriu características de andamento em marcha, rusticidade, destreza, docilidade e boa adaptação às condições locais, o que despertou o interesse de criadores locais, utilizando em esportes como rodeios de tiro de laço, cavalgadas e no dia a dia no trabalho com o gado (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018). Em 1976, foi criada a Associação Brasileira dos Criadores de Cavalo Campeiro (ABRACCC) (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018). O cavalo Campeiro hoje encontra-se em risco de extinção, atualmente existem menos de 50 criadores distribuídos nos três estados da região Sul do Brasil, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, e a cada ano o número de registros é menor, fato preocupante para a raça (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018).

Existem muitas doenças de grande importância na equinocultura, que muitas vezes são subdiagnosticadas, e pouco notificadas. Um exemplo é a tripanossomose, conhecida também como “mal das cadeiras” ou “surra”. A enfermidade é causada por protozoários flagelados unicelulares do gênero *Trypanosoma*. Várias espécies podem afetar equinos, incluindo *T. brucei* e *T. congolense*, restritas a algumas regiões da África; *T. cruzi*, de ocorrência rara em equinos; *T. equiperdum*, doença reprodutiva conhecida como “durina”; e as de maior importância clínica, *T. evansi* e *T. vivax*, amplamente distribuídas na África, Oriente Médio, Ásia e América Latina (BUSCHER et al., 2019).

Infecções naturais por *T. evansi* foram relatadas em 48 países, em diversas espécies (AREGAWI et al., 2019), podendo parasitar, além de equinos, camelos, bovinos, caprinos, ovinos, suínos, caninos, felinos, bubalinos, elefantes, capivaras, quatis, antas, veados, pequenos roedores silvestres e humanos (SILVA et al., 2010). A transmissão ocorre mecanicamente, via morcegos e insetos hematófagos, das famílias *Tabanidae* e *Stomoxidae*, havendo relatos da possibilidade de transmissão via carrapatos (RODRIGUES et al., 2005).

A ocorrência mais comum é em locais e épocas de temperaturas mais altas, onde há aumento no número de insetos hematófagos. Alguns animais podem atuar como reservatórios de *T. evansi*, como caninos, bovinos e capivaras. Outro fator de risco é a circulação de equinos entre as propriedades, principalmente em estações de monta

(SILVA et al., 2010). No Pantanal Mato-grossense a tripanossomose é considerada enzoótica, enquanto nos estados do Sul ocorre na forma de surtos (SILVA et al., 2010).

Os sinais clínicos podem variar conforme o estágio da doença e estado imune do animal, podendo ser assintomático ou apresentar emagrecimento progressivo apesar de apetite voraz, febre intermitente, anemia, edema de membros e região ventral, letargia, placas de urticária, conjuntivite e ceratite, abortamento, ataxia e paralisia de membros posteriores e lábios, podendo evoluir para óbito (SILVA et al., 2010; BUSCHER et al., 2019). Alterações hematológicas podem ocorrer, incluindo anemia, neutropenia ou neutrofilia, monocitose, linfopenia ou linfocitose (SILVA et al., 2010).

O diagnóstico de *T. evansi* pode ser realizado a partir de amostras de sangue, linfa e líquido cefalorraquidiano, e outras tripanossomoses como *T. equiperdum* pode-se utilizar descargas vaginais ou prepuciais (BUSCHER et al., 2019). Vários testes podem ser utilizados, incluindo inoculação em camundongos, observação em esfregaço de sangue periférico em microscopia óptica, testes moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), e sorológicos, como imunofluorescência indireta (RIFI), Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), fixação do complemento, aglutinação em cartão (CATT) (AREGAWI et al., 2019). Diagnóstico diferencial envolve doenças como mieloencefalite protozoária equina (EPM), mieloencefalopatia por herpesvírus equino tipo 1, encefalomyelites virais dos equinos (Leste, Oeste e Venezuelana), raiva, leucoencefalomalácia e babesiose, nos casos crônicos (RODRIGUES et al., 2005).

Não foram encontrados estudos de prevalência de *T. evansi* na região Sul do Brasil, apenas relatos de surtos, dessa forma, o objetivo deste trabalho é identificar a prevalência de *T. evansi*, e possíveis fatores de risco associados a infecção em equinos da raça Campeiro.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar a prevalência da infecção natural por *Trypanosoma evansi* em equinos da raça Campeiro clinicamente saudáveis, determinar os fatores associados à infecção e correlacionar a taxa obtida com as variáveis hematológicas e bioquímicas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a prevalência de *Trypanosoma evansi* por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em equinos da raça Campeiro clinicamente saudáveis.
- Relacionar os achados de prevalência com os dados de hemograma e bioquímica sérica.
- Identificar os fatores associados à infecção por *Trypanosoma evansi* em equinos da raça Campeiro, por meio de questionários e correlação com achados de prevalência.

### **3 HIPÓTESES**

- A tripanossomose pode estar presente em criatórios de equinos da raça Campeiro, mesmo em animais assintomáticos.
- Alguns fatores podem estar associados à infecção pelo protozoário, como a presença de vetores e de outros animais que atuam como reservatórios, além do manejo e sistema de criação extensiva.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 CAVALO CAMPEIRO

A criação de cavalos nas Américas iniciou a partir da segunda viagem de Cristóvão Colombo, que desembarcou dez equinos, incluindo garanhões e éguas, na Ilha de São Domingos, no Caribe. No Brasil, os primeiros registros são de 1534, quando os primeiros cavalos portugueses foram trazidos, em São Vicente – São Paulo (TORRES & JARDIM, 1992). As raças importadas eram de origem hispânica, inglesa, berbere, árabe e turca, das quais iniciaram-se cruzamentos que, associados à diversidade de ecossistemas e condições brasileiras, fizeram surgir diversas raças naturalizadas, que foram sendo selecionadas quanto à adaptação às condições geoclimáticas e funções desempenhadas em cada região do país (SANTOS et al., 1992). Segundo Bianchini et al. (2006), a maioria dos animais domésticos criados em países tropicais descendem de animais trazidos por colonizadores europeus e passaram por longos períodos de seleção natural, permitindo sua sobrevivência em ambientes com diferentes condições climáticas, alimentação e agentes patogênicos, e seus descendentes tornaram-se adaptados a essas condições.

Entre as raças localmente adaptadas está o cavalo Campeiro. Sua origem está associada à expedição espanhola de Alvar Nuñez Cabeza de Vaca, em 1541, que chegou ao litoral catarinense trazendo cavalos, homens e bovinos que seguiram por terra desde a foz do rio Itapocu, no norte do estado, passando pela Serra do Mar e o Planalto Catarinense, até chegar a Assunção, no Paraguai (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018; ARAÚJO, 1990). Acredita-se que alguns animais tenham se perdido no percurso, assim como de outras expedições que seguiram a mesma rota. Além disso, muitos animais foram abandonados após ataques às reduções jesuíticas na Guerra Guaranítica (1753-1756) (ARAÚJO, 1990). Em 1728, Francisco de Souza e Farias saiu de Araranguá – Santa Catarina transpondo as matas da Serra Geral, abrindo o Caminho dos Conventos, e acabou deparando-se com grande quantidade de equinos e bovinos vivendo livremente. Após isso, Cristóvão Pereira de Abreu registrou a domesticação inicial desses animais, agregando-os a sua tropa (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018).

Esses equinos passaram a habitar a chamada “Região dos Pinhais”, que inclui o Planalto de Santa Catarina e Rio Grande do Sul e os Campos Gerais do Paraná, sendo pouco a pouco capturados, domados e selecionados, até que, em 10 de fevereiro de 1976, foi fundada a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Campeiros (ABRACCC),

oficializada em 1985 no Ministério da Agricultura (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018).

A raça pode ser considerada de pequeno a médio porte, com altura de cernelha padrão para registro entre 1,42 e 1,54 m para machos e 1,40 e 1,52 m para fêmeas, e peso médio de 420kg (McMANUS et al., 2005). Apresenta altura de garupa levemente superior a cernelha, e índices corporais característicos de cavalos de sela e tração leve (McMANUS et al., 2005). O Campeiro faz parte de um grupo de sete raças brasileiras que apresentam característica de andamento marchado, em quatro tempos, com apoios alternados dos bípedes laterais e diagonais, intercalados por momentos de tríplice apoio, que proporciona comodidade e conforto ao cavaleiro (PEREIRA, et al., 2020). Além disso, apresenta rusticidade, resistência, adaptação local e docilidade, possibilitando sua utilização em cavalgadas, manejo de gado, além de esportes como o tiro de laço (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018).

Existem algumas particularidades fisiológicas em equinos da raça Campeiro, em comparação a outras raças, com relação a perfil hematológico, proteína plasmática total e fibrinogênio (FONTEQUE et al., 2016), perfil bioquímico (SOUZA et al., 2016), e proteinograma sérico (SOUZA et al., 2019), o que deve ser levado em conta como referência na interpretação desses exames.

O número de registros de animais foi grande no ano de criação da associação, porém sofreu declínio nos anos seguintes, o que preocupa pela perda da variabilidade genética em virtude do aumento da consanguinidade (FALCÃO, 2002). Os criadores da raça possuem como base, em sua maioria, fatores culturais e familiares para a criação. Além disso, a maioria dos proprietários são usuários, e não criadores, não investindo na reprodução da raça, o que configura um sério risco de extinção (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018).

## 4.2 TRIPANOSSOMOSE

### 4.2.1. Etiologia

As tripanossomoses são doenças que afetam uma ampla gama de espécies domésticas e selvagens, e são amplamente distribuídas. O *Trypanosoma evansi*, causador de enfermidade conhecida como “surra” ou “mal das cadeiras” foi o primeiro tripanossoma patogênico a mamíferos descrito em equinos e dromedários na Índia, por

Griffith Evans (DESQUESNES, et al., 2013b). Trata-se de um hemoprotozoário extracelular, que foi introduzido em diversos países, incluindo o Brasil, através da colonização e importação de animais contaminados (STOCO et al, 2017; YADAV et al., 2019).

*T. evansi* pertence ao subgênero Trypanozoon (seção Salivaria), Família Trypanosomatidae e Ordem Kinetoplastida, é biologicamente semelhante a *T. equiperdum*, o agente causador da durina, e morfológicamente assemelha-se às formas longas e delgadas de *T. brucei brucei*, *T. b. gambiense* e *T. b. rhodesiense*, inclusive há estudos sobre uma possível derivação do *T. brucei* como origem do *T. evansi* (STOCO et al., 2017). Suas características morfológicas incluem comprimento entre 15 e 34 µm, longo flagelo livre, movimentos ativos e membrana ondulante altamente visível, extremidade posterior fina com cinetoplasto subterminal pequeno (STOCO et al., 2017), embora existam formas acinetoplásticas, como as cepas brasileiras (DESQUESNES et al., 2013b).

#### 4.2.2. Epidemiologia

Entre os tripanossomas salivares, *T. evansi* é o que possui maior diversidade de espécies de hospedeiros, sendo os camelos originalmente os principais (DESQUESNES et al., 2013b). Na África existe ampla distribuição, da fronteira norte do deserto do Saara para o leste, incluindo o Sudão e o norte do Quênia, com relatos em camelos, equídeos e cães (STOCO et al., 2017) com alta patogenicidade nessas espécies, e em bovinos, cabras, ovelhas, suínos e búfalos, com menores importâncias clínicas (DESQUESNES et al., 2013b).

Na Ásia, *T. evansi* é um dos principais parasitas de búfalos e cavalos (STOCO et al., 2017), sendo encontrado também em bovinos, porcos, cabras, elefantes, cervídeos e outras espécies silvestres (DESQUESNES et al., 2013b). Na Europa, há relatos na Espanha e França em cavalos e camelos (STOCO et al., 2017). Na América Latina é encontrado em cavalos, bovinos, búfalos, ovelhas, e cabras, além de uma gama de reservatórios silvestres como capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), quatis (*Nasua nasua*), cervos (*Odocoileus virginianus chiriquensis*), veados (*Mazama temama*), porcos selvagens (*Tayassu tajacu*), cães selvagens (*Canis azarae*) e jaguatiricas (*Felis pardalis*) (STOCO et al., 2017). Nas regiões subtropicais da Argentina, o *T. evansi* apresenta ocorrência endêmica (ZANETTE et al., 2008). No Brasil, há relatos de ocorrência em

equinos em diversas regiões, incluindo Pantanal mato-grossense, Minas Gerais (NUNES et al., 2012), Rio Grande do Sul (RODRIGUES et al., 2005; ZANETTE et al., 2008; CONRADO et al., 2005), em bovinos em Santa Catarina (SILVA et al., 2007), e em cães (BILHEIRO et al., 2019).

A doença possui grande importância econômica, em virtude da mortalidade, abortamentos, infertilidade, redução na produção de leite e ganho de peso (YADAV et al., 2019).

#### 4.2.3. Transmissão

A transmissão pode ocorrer de diversas formas, entre elas, a mecânica por meio de vetores, vertical, horizontal, iatrogênica e por via oral, dependendo da estação, a localização e as espécies hospedeiras (DESQUESNES et al., 2013a). A transmissão mecânica é a mais importante, e ocorre pela picada de insetos, principalmente moscas do gênero *Tabanus* (Diptera: Tabanidae), e outros gêneros, como *Stomoxys*, *Haematobia* e *Hippobosca* também podem agir como vetores, que ao se alimentarem em animais infectados, acabam se contaminando e transmitindo a doença (STOCO et al., 2017).

No aparelho bucal dos insetos, o parasita não sobrevive por muito tempo, estima-se que cerca de 30 minutos, conforme estudo em *T. vivax*, por isso geralmente as infecções acontecem dentro de um mesmo rebanho, ou em espécies com convívio próximo, porém, no estômago dos insetos, esse período de vida é maior, e a transmissão pode se estender quando ocorre regurgitação nas fases iniciais do repasto (DESQUESNES et al., 2013a). Entretanto, tabanídeos são persistentes na conclusão de sua refeição, ao serem interrompidos, logo buscam outros hospedeiros, e depois ficam por cerca de 5-7 dias sem se alimentar (DESQUESNES et al., 2013a). *T. evansi* não resiste por tanto tempo, dessa forma, a probabilidade de transmissão por *Stomoxys* é maior, visto que os intervalos de alimentação são menores (DESQUESNES et al., 2013a).

Outra possível forma de transmissão é a via iatrogênica, em programas de vacinação de rebanho por exemplo (REID S. A., 2002). Transmissão vertical foi descrita em *T. equiperdum*, *T. brucei*, e *T. evansi*, via transplacentária, e via sexual ou de mãe para o bezerro/potro, quando existe lesão nas mucosas, ou em contato próximo com secreções parasitadas (muco, lacrimejamento, entre outras) (DESQUESNES et al., 2013a). A contaminação via oral também pode ocorrer, principalmente quando existem lesões na

mucosa oral, e em espécies carnívoras que se alimentam de presas infectadas (DESQUESNES et al., 2013a).

O morcego hematófago da América Latina (*Desmodus rotundus*) possui papel importante na transmissão de *T. evansi*, pois além de agir como vetor, é também hospedeiro e reservatório do parasita, podendo apresentar ou não sinais clínicos (DESQUESNES et al., 2013a).

#### 4.2.4. Patogenia e sinais clínicos

Os efeitos patogênicos de *T. evansi* são variáveis, desde inaparentes até letais, dependendo da espécie, fatores individuais, situação epidemiológica e características do parasita (DESQUESNES et al., 2013b). Em equinos, a doença geralmente se apresenta mais grave, podendo atingir taxas de mortalidade de 90% (STOCO et al., 2017).

O período de incubação dura 1-4 semanas, podendo chegar a 8 semanas (DESQUESNES et al., 2013b) e os sinais clínicos mais frequentes são febre recorrente com hipertermia transitória, anemia, fraqueza, lacrimejamento, conjuntivite, erupções cutâneas, linfadenopatia e, classicamente, edema da região submandibular, membros e abdômen (STOCO et al., 2017). Outros sinais incluem perda de apetite, emagrecimento progressivo, e pode ocorrer também abortamento, hemorragia na câmara anterior do olho e icterícia (DESQUESNES et al., 2013b). Reação cutânea no local da picada da mosca, onde o parasita inicia sua multiplicação também pode estar presente (STOCO et al., 2017).

Na fase aguda da doença podem surgir ainda hemorragias em membranas mucosas, urticária e ceratite (STOCO et al., 2017). A fase crônica é caracterizada pela invasão ao sistema nervoso central (SNC), que pode ocorrer dentro de 2 semanas pós infecção, com diferentes manifestações neurológicas, dependendo de fatores como espécie e susceptibilidade do hospedeiro e virulência do parasita, sendo o mais comum a paralisia de membros pélvicos (STOCO et al., 2017). Alterações na locomoção são classicamente descritos em equinos, iniciando com paresia que evolui para paralisia, podendo ocorrer óbito em 2 a 8 semanas (DESQUESNES et al., 2013b).

O *T. evansi* possui tropismo para o sistema neurológico, levando a incoordenação motora, meningoencefalite e desmielinização (FRACASSO et al., 2019). Existe relação entre a tripanossomose congênita e lesões neurodegenerativas irreversíveis no feto, afetando o desenvolvimento cerebral (FRACASSO et al., 2019).

Em bovinos, existe desde a apresentação subclínica, até animais apresentando abortamento, infertilidade, baixa de produtividade e morte (SILVA et al., 2007). Em ovelhas, cabras e suínos a infecção natural geralmente é leve ou assintomática, mas pode ocorrer febre, redução de apetite, anemia e alterações de comportamento (DESQUESNES et al., 2013b). Os cães são altamente suscetíveis à infecção por *T. evansi*, tendo como sinais clínicos fraqueza, febre, anemia, edema, uveíte, hepatomegalia, esplenomegalia e paralisia, podendo vir a óbito (BILHEIRO et al., 2019).

Nas infecções por *T. evansi*, anemia é um sinal comum, devido a mecanismos imunomediados na fase aguda, onde ocorre eritrofagocitose, e a eritropoiese deficiente na fase crônica (CONRADO et al., 2005). O metabolismo energético do tripanossoma depende inteiramente da glicólise, tendo a mitocôndria papel fundamental, e piruvato como produto final, excretado no sangue do hospedeiro (HABILA et al., 2012). Embora o piruvato possa ser facilmente utilizado pelos tecidos do hospedeiro, a alta concentração, decorrente de alta parasitemia, pode levar ao esgotamento das reservas alcalinas, acidose e redução na afinidade da hemoglobina para o oxigênio (HABILA et al., 2012). Além disso, existe a produção de radicais livres e enzimas, que atuam como agentes citotóxicos, por meio de estresse oxidativo e peroxidação lipídica que acabam causando lesões teciduais, em especial aos eritrócitos, ocorrendo alterações no transporte de oxigênio e hemólise (HABILA et al., 2012).

Outra característica importante do *T. evansi* é o mecanismo de escapar da resposta imune do hospedeiro, por meio da mudança periódica da Glicoproteína de Superfície Variante (VSG), sua principal proteína de superfície, representando 10% da proteína total e o genoma contém 1000 genes capaz de codificar para genes VSG (HABILA et al., 2012). Tal característica interfere também em resultados de imunodiagnósticos (STOCO et al., 2017).

#### 4.2.5. Hematologia e bioquímica

Anemia macrocítica hipocrômica entre 20 e 40 dias após infecção experimental em coelhos com *T. evansi*, além de aumento na concentração de proteínas plasmáticas, redução do número de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e basófilos (SILVA et al., 2008a).

Em cães, pode ser encontrado anemia normocítica normocrômica, ou microcítica hipocrômica, trombocitopenia, agregação de eritrócitos, policromasia, anisocitose, esquistócitos, esferócitos, hipocromia, linfopenia, leucopenia, linfopenia e monócitos



ativados, e na bioquímica sérica aumento da atividade de ALT e FA, aumento de creatinina e hipoalbuminemia (ECHEVERRIA et al., 2019).

Em equinos, a anemia pode se apresentar com intensidade variável, normocítica normocrômica ou macrocítica hipocrômica, hiperproteinemia, pode ocorrer leucopenia ou leucocitose, linfopenia ou linfocitose, neutropenia ou neutrofilia, dependendo da fase de evolução da doença, além da presença de leucócitos atípicos (RODRIGUES et al., 2005; MARQUES et al., 2005).

#### 4.2.6. Diagnóstico

Os exames parasitológicos geralmente são realizados utilizando sangue, mas outros materiais biológicos podem ser usados, como líquido cefalorraquidiano (no caso de sinais nervosos), fluidos articulares, ou fluido de nódulo linfático (DESQUESNES et al., 2013a).

O diagnóstico pode ser realizado por meio da observação direta do parasita em esfregaços de sangue fresco, porém em locais onde coexistem diferentes espécies de tripanossoma, a identificação torna-se difícil (STOCO et al., 2017). O teste pode ser realizado em coloração Giemsa ou panótico rápido, com sensibilidade de  $\sim 10^5$  tripanossomas mL<sup>-1</sup> de sangue (REID, 2002).

Outro método é a inoculação em animais suscetíveis (ratos e camundongos), porém também apresenta restrições na discriminação diagnóstica (STOCO et al, 2017).

Os testes sorológicos recomendados pela OIE para detecção de *T. evansi* são Imunofluorescência Indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), teste de aglutinação em cartão para Tripanossomose (CATT) e tripanólise imune (IT), sendo IT com alta especificidade (BUSCHER et al., 2019). O CATT é considerado um teste bastante promissor no diagnóstico, porém ELISA com antígeno purificado se mostrou mais preciso (REID, 2002). Porém, imunodiagnósticos de *T. evansi* se mostram difíceis em razão das VSGs e das reações cruzadas com outras espécies de tripanossoma (STOCO et al, 2017).

Técnicas moleculares, como a PCR, têm mostrado bons resultados na detecção do parasita, com boa reprodutibilidade, sensibilidade e especificidade (STOCO et al, 2017). A PCR apresenta alta sensibilidade, possibilitando a detecção do parasita em concentrações muito baixas, e em períodos pré-patentes da infecção, antes dos testes de visualização do parasita (FERNÁNDEZ et al., 2009).

É necessário o diagnóstico diferencial de outras enfermidades que cursam com quadros anêmicos, como a babesiose e a anemia infecciosa equina, sendo que na babesiose é possível a visualização dos parasitas em esfregaço sanguíneo, e na anemia infecciosa equina observam-se grânulos de hemossiderina no citoplasma de neutrófilos (RODRIGUES et al., 2005). Doenças que cursam com sinais neurológicos também devem ser diferenciadas, incluindo a mieloencefalite protozoária equina (MPE), que cursa com sinais clínicos semelhantes, porém aspectos epidemiológicos distintos; a mieloencefalopatia por herpesvírus equino tipo I, que além dos sinais neurológicos, apresenta sinais respiratórios; as encefalomyelites Leste e Oeste, que além dos sinais já citados, são acrescidas de ptose labial, protrusão da língua e paralisia esofágica; a raiva, que apresenta curso agudo ou subagudo, com 100% de letalidade; e a leucoencefalomalácia, que também apresenta curso clínico mais rápido que a tripanossomose (RODRIGUES et al., 2005).

#### 4.2.7. Tratamento

O diacetato de diminazeno apresenta altos índices terapêuticos no combate a tripanossomas, é uma diamidina com atividade tripanocida, babesicida e bactericida (SILVA et al., 2008b). O dipropionato de imidocarb tem sido relatado no tratamento, porém com menor eficácia (SILVA et al., 2008b).

O cloreto de isometamidium é utilizado principalmente na profilaxia, enquanto fenantridinas, diacetato de diminazeno e cloridrato de melarsamina são utilizados como agentes terapêuticos (MEKONNEN et al., 2018). Em testes realizados em camundongos, melarsamina em uma dose de 2mg/kg foi eficaz no tratamento, bem como diacetato de diminazeno em dose de 20mg/kg, enquanto cloridrato de isometamidium a 1mg/kg teve eficácia intermediária (MEKONNEN et al., 2018). Em equinos, há relatos de resistência de *T. evansi* a cloridrato de diamidina. O diacetato de diminazeno tem baixa capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica, por isso doses maiores conseguem ter melhores resultados (SILVA et al., 2010).

## 5. REFERÊNCIAS

AREGAWI, W.G.; AGGA, G.E.; ABDI, R.D.; BUSCHER, P. Systematic review and meta-analysis on the global distribution, host range, and prevalence of *Trypanosoma evansi*. **Parasites & Vectors**, v.12, n.67, p.1-25, 2019.

ARAÚJO, R. V. Os Jesuítas dos sete povos. Canoas: **La Salle**; 1990. 467 p.

BIANCHINI, E.; MCMANUS, C.; LUCCI, C. M.; FERNANDES, M. C. B.; PRESCOTT, E.; MARIANTE, A. S.; EGITO, A. A. Características corporais associadas com a adaptação ao calor em bovinos naturalizados brasileiros. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.41, n.9, p.1443-1448, 2006.

BILHEIRO, A. B.; CAMARGO, J. S. A. A.; ZAMARCHI, T. B. O.; TONIOLO, C.; BASSIN, H. C. M.; SUSSUARANA, I. T. A.; HENRIQUES, A. L.; CAMARGO, L. M. A. Survey of *Trypanosoma* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) Infection in Monte Negro municipality, state of Rondônia, western Amazon, with first record of *T. evansi* in the state. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, v.52, 2019.

BUSCHER, P.; GONZATTI, M.I.; HÉBERT, L.; INOUE, N.; PASCUCCI, I.; SCHNAUFER, A.; SUGANUMA, K.; TOURATIER, L.; REET., N.V. Equine trypanosomosis: enigmas and diagnostic challenges. **Parasites and Vectors**, v.12, n.234, p.1-8. 2019.

CAMOIN, M.; KOCHER, A.; CHALERMWONG, P.; YANGTARRA, S.; KAMYINGKIRD, K.; JITTAPALAPONG, S.; DESQUESNES, M. The indirect ELISA *Trypanosoma evansi* in equids: optimisation and application to a serological survey including racing horses, in Thailand. **BioMed Research International**, v. 2019, n.4, p. 1-12, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2964639>.

CONRADO, A. C.; LOPES, S. T. A.; OLIVEIRA, L. S. S.; MONTEIRO, S. G.; VARGAS, D. L. B.; BUENO, A. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cavalos na região Central do Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.928-931, 2005.

DESQUESNES, M.; DARGANTES, A.; LAI, D. H.; LUN, Z. R.; HOLZMULLER, P.; JITTAPALAPONG, S. *Trypanosoma evansi* and surra: A review and perspectives on transmission, epidemiology and control, impact, and zoonotic aspects. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-20, 2013a.

DESQUESNES, M.; HOLZMULLER, P.; LAI, D. H.; DARGANTES, A.; LUN, Z. R.; JITTAPALAPONG, S. *Trypanosoma evansi* and surra: A review and perspectives on origin, history, distribution, taxonomy, morphology, hosts, and pathogenic effects. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-22, 2013b.

ECHEVERRIA, J. T.; SOARES, R. L.; CREPALDI, B. A.; OLIVEIRA, G. G.; SILVA, P. M. P.; PUPIN, R. C.; MARTINS, T. B.; CLEVELAND, H. P. K.; RAMOS, C. A. N.; BORGES, F. A. Clinical and therapeutic aspects of an outbreak of canine

trypanosomiasis. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v.28, n.2, p.320-324, 2019.

FALCÃO, R. F. **Variação genética, fenotípica e caracterização do Cavallo Campeiro**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2002, Dissertação de Mestrado.

FERNÁNDEZ, D.; GONZÁLEZ-BARADAT, B.; ELEIZALDE, M.; GONZÁLEZ-MARCANO, E.; PERRONE, T.; MENDOZA, M. *Trypanosoma evansi*: A comparison of PCR and parasitological diagnostic tests in experimentally infected mice. **Experimental Parasitology**, v.121, n.1, p.1-7, 2009.

FRACASSO, M.; PILLAT, M. M.; BOTTARI, N. B.; SILVA, A. D.; GRANDO, T. H.; MATOS, A. F. I. M.; PETRY, L. S.; ULRICH, H.; ANDRADE, C. M.; MONTEIRO, S. G.; SILVA, A. S. *Trypanosoma evansi* impacts on embryonic neural progenitor cell functions. **Microbial Pathogenesis**, v.136, p.1-5, 2019.

HABILAN.; INUWA, M. H.; AIMOLA, I. A.; UDEH, M. U.; HARUNA, E. Pathogenic mechanisms of *Trypanosoma evansi* infections. **Research in Veterinary Science**, v.93, p.13-17, 2012.

MARQUES, L. C.; MACHADO, R. Z.; ALESSI, A. C.; AQUINO, L. P. C. T.; PEREIRA, G. T. Experimental infection with *Trypanosoma evansi* in horses: clinical and haematological observations. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.1, p.11-15, 2000.

McMANUS, C.; FALCÃO, R.A.; SPRITZE, A.; COSTA, D.; LOUVANDINI, H.; DIAS, L. T.; TEIXEIRA, R.A.; REZENDE, M.J.M.; GARCIA, J.A.S. Caracterização morfológica de equinos da raça Campeiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1553-1562, 2005.

MEKONNEN, G.; MOHAMMED, E. F.; KIDANE, W.; NESIBU, A.; YOHANNES, H.; REET, N. V.; SCHER, P. B.; BIRHANU, H.; Isometamidium chloride and homidium chloride fail to cure mice infected with Ethiopian *Trypanosoma evansi* type A and B. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v.12, n.9, p.1-12, 2018.

NUNES, J. T. S.; SILVA, A. S.; DORNELES, F. S.; TONIN, A. A.; LAZZAROTTO, C.; MILETTI, L. C. MONTEIRO, S. G. Occurrence of *Trypanosoma evansi* in Horses in the State of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.32, n. 4, p.205-207, 2012.

PEREIRA, L. M. A.; SOUZA, A. F. SILVA, A. D.; COSTA, D.; FONTEQUE, J. H. Medidas lineares e angulares não influenciam o tipo de marcha em cavalos Campeiros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.72, n.2, p.565-572, 2020.

REID, S. A. *Trypanosoma evansi* control and containment in Australasia. **Trends in Parasitology**, v.18, n.5, p.219-224, 2002.

RODRIGUES, A.; FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; SCHILD, A.L.; SOARES, M.P.; MILANO, J.; BARROS, C.S.L. Surtos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em

equinos no Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.239-249, 2005.

SANTOS, S. A.; SERENO, J. R. B.; MAZZA, M. C. M.; MAZZA, C. A. Origin of the Pantaneiro horse in Brazil. **Archives Zootechnia**, v.41, n.154 (extra), p. 371-381, 1992.

SILVA, A.S.; ANDRADE NETO, O.A.S.; COSTA, M.M.; WOLKMER, P.; MAZZANTTI, C.M., SANTURIO, J.M.; LOPES, S.T.A.; MONTEIRO, S.G.; Tripanossomose em equinos na região sul do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.38, n.2, p.113-120, 2010.

SILVA, A. S.; COSTA, M. M.; LOPES, S. T. A.; MONTEIRO, S. G. Alterações hematológicas em coelhos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma evansi*. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p. 538-542, 2008a.

SILVA, A. S.; OLIVEIRA, C. B.; ZANETTE, R. A.; SOARES, C. D. M.; CORADINI, G.; POLENZ, C. H.; SANTURIO, J. M.; MONTEIRO, S. G. Ocorrência de *Trypanosoma evansi* em bovinos de uma propriedade leiteira no município de Videira - SC, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.3, p.373-376, 2007.

SILVA, A. S.; TOCHETTO, C.; ZANETTE, R. A.; PIEREZAN, F.; RISSI, D. R.; SANTURIO, J. M.; MONTEIRO, S. G. Aceturato de diminazeno e dipropionato de imidocarb no controle de infecção por *Trypanosoma evansi* em *Rattus norvegicus* infectados experimentalmente. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1357-1362, 2008b.

SOUZA, A. F.; FONTEQUE, J. H.; COSTA, D. Cavalo Campeiro: Passado, presente e futuro do Marchador das Araucárias. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v.16, ed esp.2. p.1-12, 2018.

SOUZA, A.F.; SCHADE, J.; KUNZ, J.R.; RAMOS, A.F.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; FONTEQUE, G.V.; COSTA, D.; SAITO, M.E.; FONTEQUE, J.H. Perfil bioquímico sérico de equinos clinicamente sadios da raça Campeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, n.4, p.839-844, 2016.

SOUZA, A.F.; SCHADE, J.; RAMOS, A.F.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; FONTEQUE, G.V.; COSTA, D.; MULLER, T.R.; FONTEQUE, J.H. Serum proteinogram of the Campeiro horse. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.71, n.2, p.363-368, 2019.

STOCO, P.H.; MILETTI, L. C.; PICOZZI, K.; STEINDEL, M.; GRISARD, E. C. Other Major Trypanosomiasis. In: Marcondes CB, editor. **Arthropod borne diseases**, Cham (Switzerland): Springer International Publishing; 2017. p. 299-324.

TORRES, A. P.; JARDIM, W. R. Criação do Cavalo e de Outros Equinos. São Paulo: **Nobel**; 1992. 654 p.

YADAV, S. C.; KUMAR, P.; KHURANA, S.; KUMAR, R.; Seroprevalence of *Trypanosoma evansi* infection in equines of north and north western states of India. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.79, p.63-67, 2019.

ZANETTE, R. A.; SILVA, A. S.; COSTA, M. M; MONTEIRO, S. G.; SANTURIO, J. M.; LOPES, S. T. A. Ocorrência de *Trypanosoma evansi* em eqüinos no município de Cruz Alta, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1468-1471, 2008.

## 6. PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma evansi* EM EQUINOS DA RAÇA CAMPEIRO

### RESUMO

O cavalo Campeiro é uma raça localmente adaptada à região do planalto catarinense e tem como sua principal característica a marcha, por isso é conhecida como “Marchador das Araucárias”. É uma raça considerada em risco de extinção, sendo fundamental a busca por preservação desse importante recurso genético. Entre as doenças que afetam equinos, está a tripanossomose, conhecida também como “surra”, ou “mal das cadeiras”, causada pelo protozoário *Trypanosoma evansi*. Porém, não existem dados epidemiológicos sobre a prevalência da infecção em equinos da raça Campeiro. O objetivo desse trabalho foi determinar a prevalência de *T. evansi* em equinos da raça Campeiro, e associar a achados hematológicos e bioquímicos, bem como identificar possíveis fatores de risco. Foram realizadas colheitas de sangue por venopunção da veia jugular de 214 equinos da raça Campeiro, 50 machos e 164 fêmeas, de idades entre três meses e 27 anos, de 16 propriedades localizadas no estado de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná. Para análise dos fatores associados foi realizado um questionário epidemiológico com os proprietários. As amostras de sangue foram submetidas a PCR, RIFI, hemograma e bioquímica sérica. A prevalência foi de 14% de animais positivos na PCR, e 59% na RIFI. Observou-se aumento no hematócrito, aumento no número de basófilose diminuição do fibrinogênio plasmático, redução da atividade enzimática da ALT, AST e ureia, e aumento da CK e creatinina nos animais positivos, o que possivelmente não possui relação com a infecção. Os dados obtidos por meio dos questionários epidemiológicos não apresentaram diferença. Conclui-se que o *T. evansi* está presente na região Sul do país, com alta prevalência em equinos da raça Campeiro.

**Palavras chave:** raça localmente adaptada, tripanossomose, surra, hemoparasita.

## 6.1. INTRODUÇÃO

O cavalo Campeiro, conhecido como “Marchador das Araucárias”, é uma raça localmente adaptada à região do planalto catarinense, e encontra-se em risco de extinção, devido ao baixo número de registros na associação (Associação Brasileira de Criadores de Cavalo Campeiro - ABRACCC). A raça passou por longo período de seleção natural, adquirindo características de andamento em marcha, rusticidade, destreza, docilidade e boa adaptação às condições locais (SOUZA, FONTEQUE & COSTA, 2018).

Existem muitas doenças de grande importância na equinocultura, que muitas vezes são subdiagnosticadas, e pouco notificadas. Entre elas estão as tripanossomoses, causadas por protozoários flagelados unicelulares do gênero *Trypanosoma*. Várias espécies podem afetar equinos, sendo as de maior importância clínica, *T. evansi*, e *T. vivax*, amplamente distribuídas na África, Oriente Médio, Ásia e América Latina (BUSCHER et al., 2019).

A doença ocasionada por *T. evansi*, conhecida também como “mal das cadeiras” ou “surra”, já foi relatada em 48 países, em diversas espécies (AREGAWI et al., 2019), podendo parasitar, além de equinos, camelos, bovinos, caprinos, ovinos, suínos, caninos, felinos, bubalinos, elefantes, capivaras, quatis, antas, veados, pequenos roedores silvestres e humanos (SILVA et al., 2010). Os sinais clínicos podem variar conforme o estágio da doença e estado imune do animal, podendo ser assintomático, ou apresentar emagrecimento progressivo apesar de apetite voraz, febre intermitente, anemia, edema de membros e região ventral, letargia, placas de urticária, conjuntivite e ceratite, abortamento, ataxia e paralisia de membros posteriores e lábios, podendo evoluir para óbito (SILVA et al., 2010; BUSCHER et al., 2019).

A transmissão de *T. evansi* ocorre principalmente por via mecânica, via morcegos e insetos hematófagos, das famílias *Tabanidae* e *Stomoxidae*, havendo relatos da possibilidade de transmissão via carrapatos (RODRIGUES et al., 2005). A ocorrência mais comum é em locais e épocas de temperaturas mais altas, onde há aumento no número de insetos hematófagos. Alguns animais podem atuar como reservatórios de *T. evansi*, como caninos, bovinos e capivaras. Outro fator de risco é a circulação de equinos entre as propriedades, principalmente em estações de monta (SILVA et al., 2010).

O diagnóstico pode ser realizado a partir de amostras de sangue, linfa, líquido cefalorraquidiano, leite e descargas vaginais ou prepuciais (BUSCHER et al., 2019). Vários testes podem ser utilizados, incluindo inoculação em camundongos, observação



em esfregaço de sangue periférico em microscopia óptica, testes moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), e sorológicos, como imunofluorescência indireta (RIFI), Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), fixação do complemento, aglutinação em cartão (CATT) (AREGAWI et al., 2019).

Não foram encontrados estudos de prevalência de *T. evansi* na região Sul do Brasil, apenas relatos de surtos, dessa forma, o objetivo deste trabalho é identificar a prevalência de *T. evansi*, e possíveis fatores de risco associados a infecção em equinos da raça Campeiro.

## 6.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 6.2.1 Determinação do Tamanho Amostral

Foram utilizadas as seguintes fórmulas para a avaliação da prevalência de *T. evansi* na população de equinos da raça Campeiro, de acordo com a OPAS (1979):

$$n_0 = \frac{1,96^2 [p(1-p)]}{(d)^2}$$

Considera-se  $n_0$  o número de amostras;  $p$  a prevalência esperada e  $d$  a margem de erro. Admitiu-se uma prevalência estimada de 50% de amostras positivas, um intervalo de confiança de 95% e uma margem de erro de 5%, o resultado obtido foi de 384 animais. No entanto, por se tratar de uma população finita, procedeu-se o seguinte cálculo:

$$n = \frac{N \times n_0}{N + n_0}$$

Onde  $N$  é o número total de animais na população, sendo que para a raça Campeiro esse número é de 446 animais, segundo dados da Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Campeiros (ABRACCC). A partir destes cálculos, chegou-se ao número final de 206 animais a serem amostrados.

A população está dividida nos três estados do Sul do Brasil, onde existem 172 equinos no Rio Grande do Sul, 238 em Santa Catarina e 36 no Paraná. Dessa forma, as coletas foram distribuídas proporcionalmente entre os estados.

### 6.2.2 Obtenção das Amostras

Foi realizada a coleta de sangue de 214 equinos da raça Campeiro, sendo 50 machos e 164 fêmeas, com idades entre três meses e 27 anos, todos registrados na

Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Campeiros (ABRACCC). As coletas foram realizadas em 16 propriedades, distribuídas nos seguintes municípios: Lages (SC), Curitiba (SC), Ponte Alta (SC), Brunópolis (SC), São José do Cerrito (SC), São Cristóvão (SC), São Francisco de Paula (RS), Caxias do Sul (RS) e Pranchita (PR).

As coletas foram realizadas por meio de venopunção da veia jugular, utilizando tubos a vácuo sem anticoagulante para bioquímica sérica e análise sorológica (RIFI), e tubos com EDTA a 10% para realização de hemograma e PCR. As amostras destinadas a PCR foram homogeneizadas e separado uma fração em microtubo, a qual foi adicionado guanidina (Guanidine Hydrochloride 6M, EDTA 0,2M) na proporção 1:1, para melhor conservação do DNA até o momento da extração, que era realizada logo em seguida. As amostras de soro foram congeladas a -20°C, para posterior realização da análise bioquímica e RIFI.

### 6.2.3 Fatores associados

Para identificação dos possíveis fatores associados à infecção pelo parasito, foi realizado um questionário epidemiológico com os proprietários (ANEXO I).

### 6.2.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

#### 6.2.4.1 Extração de DNA

A extração de DNA das amostras iniciava-se no mesmo dia da coleta. A extração foi realizada utilizando o kit comercial Mini Spin (KASVI®), seguindo instruções do fabricante, e o protocolo fenol-clorofórmio (SAMBROOK & RUSSELL, 2001), com modificações. As amostras foram inicialmente transferidas dos microtubos para tubos de 50 mL, onde acrescentou-se tampão de lise (1 M TRIS HCl pH 7,4; 0,5M EDTA pH 8; 1M NaCl; 10% SDS), na proporção de quatro vezes o volume da amostra, proteinase K 20mg/mL, na proporção de 2,5 µL para cada 500 µL de tampão, e incubado a 42°C overnight.

No dia seguinte, foi adicionado igual volume de fenol tamponado, misturado por inversão por 10 minutos, centrifugado a 14000g por 10 minutos a 4°C, em equipamento Centrifuge 5804 R (Eppendorf®), e transferido então o sobrenadante para um novo tubo. A este, adicionado igual volume de fenol-clorofórmio (proporção 1:1), misturado por

inversão por 10 minutos, centrifugado a 14000 g por 10 minutos a 4°C, e novamente transferido o sobrenadante para novo tubo. A seguir, foi adicionado igual volume de clorofórmio, misturado por inversão por 10 minutos e centrifugado a 14000 g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, e adicionado etanol 100% na proporção de 2,5 vezes o volume da amostra, acetato de sódio 3M equivalente a 10% do volume do etanol, e 2 µL de glicogênio a 20ng/µL. Em seguida, as amostras foram mantidas em freezer a -80°C por uma hora, centrifugadas por 30 minutos a 14000 g a 4°C, e então o sobrenadante foi descartado, mantendo somente o pellet de DNA. A seguir, foram realizadas três lavagens com etanol 70%, adicionando 500 µL, centrifugado a 14000 g por 10 minutos a 4°C e descartado o sobrenadante. Após as lavagens, as amostras foram colocadas em equipamento Concentrator plus (Eppendorf®) por 20 minutos a 40°C para eliminar qualquer resíduo de etanol. Após a secagem, foi adicionado 30 µL de tampão de eluição a cada amostra, incubado por 10 minutos a 37°C, e logo em seguida realizada a quantificação da concentração de DNA em espectrofotômetro *NanoDrop*® 2000 UV-Vis (Thermo Fisher Scientific), e as amostras foram congeladas, até a realização da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

#### 6.2.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Foi realizada amplificação do DNA extraído das amostras, bem como do controle positivo, por meio de PCR, amplificando um fragmento da sequência intergênica do gene VSG. O preparo da reação foi realizado utilizando 2,5 µL de Tampão 10X Green GoTaq® Flexi Buffer (Promega), 2 µL de cloreto de Magnésio (50mM); 0,5 µL de nucleotídeos (dNTPs) 10 mM; 1,25 µL de cada primer (10 µM) RoTat 1.2 Forward GCG GGG TGT TTA AAG CAA TA e RoTat 1.2 Reverse ATT AGT GCT GCG TGT GTT CG; 0,125 µL enzima *Taq* Polimerase GoTaq® Hot Start Polymerase, (Promega) a 5U/µL; o DNA de cada amostra foi adicionado de maneira que ficasse na concentração de 300 ng de DNA e água ultrapura para completar o volume de 25 µL e ajustar a concentração. Foi utilizado controle negativo, substituindo o DNA por água ultrapura livre de DNase. A seguir, foi realizada a etapa no termociclador (Biocycler), utilizando para desnaturação inicial 95°C por 2 minutos; para desnaturação, 30 ciclos de 95°C por 20 segundos; para anelamento 56° por 20 segundos; para extensão 72°C por 20 segundos e para extensão final 72°C por 5 minutos.

Foi realizada eletroforese das amostras e controle positivo (DNA de *T. evansi* purificado, a partir de rato inoculado) e negativo em gel de agarose 1%, em cuba horizontal, utilizando 11,5 µL do produto da amplificação, 1,5 µL de tampão de amostra (azul de bromofenol e glicerol) e 2 µL de corante GelRed®. Foi utilizado marcador de peso molecular de 100 pb (Ludwig) na primeira lacuna do gel, para determinar tamanho das bandas. Foi realizada corrida de 100 Volts por 40 minutos e visualização em luz ultravioleta. Foram consideradas positivas amostras com marcação de banda de 205 pb (CLAES et al., 2004).

## 6.2.5 Imunofluorescência indireta (RIFI)

### 6.2.5.1. Obtenção do antígeno

Foi realizada inoculação de *T. evansi* purificado por via intraperitoneal em ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), para cultivo do parasita. A partir de então, foram realizadas avaliações periódicas de parasitemia, por meio de esfregaço de sangue da cauda, e coloração com kit Panótipo Rápido® (Newprov), e quando observou 30 parasitos por campo, em objetiva 100x, cerca de cinco dias após a inoculação, foi coletado, por meio de punção cardíaca, 8mL de sangue com EDTA (0,5M). A coleta foi realizada após anestesia com cloridrato de xilazina 120 mg/kg e cloridrato de quetamina 16 mg/kg, e após eutanásia com deslocamento cervical (IACUCa, 2021). Foi realizada a centrifugação da amostra por cinco minutos em centrífuga Celm®, em seguida retirado a papa leucocitária, e transferido o restante para tubo de 15 mL, a seguir adicionado solução fisiológica para lavagem, por duas vezes. Em seguida, foi realizado esfregaço, utilizando 30µL de sangue, e fixado em acetona gelada por cinco minutos. As lâminas foram embaladas em papel toalha e papel alumínio e congeladas a -20°C, para posterior utilização.

### 6.2.5.2. Teste de Imunofluorescência Indireta

Os testes foram realizados segundo NADEEM (2011), com modificações. As lâminas foram inicialmente descongeladas e secas em temperatura ambiente, a seguir foram realizadas as demarcações dos poços circulares de 9mm de diâmetro utilizando esmalte. A seguir foram realizadas diluições seriadas, em PBS (pH 7,4), de controles

positivos, nas proporções 1:40, 1:80, 1:160, padronizando-se 1:80 a diluição em que as amostras equinas seriam consideradas positivas. Foram realizadas então as diluições das amostras de soro equino coletadas, e de cada amostra adicionado 20 µL em um dos poços da lâmina com o antígeno de *T. evansi*, devidamente identificadas. Em cada lâmina foi utilizado um controle positivo e um negativo. A lâmina foi então incubada em câmara úmida (Incubadora BOD 411-TD, Ethik technology) a 37°C por 50 minutos, e em seguida lavada por três vezes em PBS 1X (pH 7,4), por cinco minutos cada, e seca em temperatura ambiente. Em seguida, diluiu-se o anticorpo conjugado, calculando o volume conforme o número de amostras a serem processadas no dia. A partir de então todas as etapas foram realizadas ao abrigo da luz. Foi adicionado 0,5% do volume de Tween; Azul de Evans na proporção 1:50; conjugado anti-IgG de rato (Sigma Aldrich, F6258®) marcado com Isotiocianato de Fluoresceína (FITC) na proporção 1:32, e o volume foi completado utilizando PBS. Foi adicionado 20 µL a cada amostra, e a lâmina foi novamente incubada em câmara úmida a 37°C por 50 minutos, e novamente lavada três vezes em PBS. Após a secagem em temperatura ambiente, foi realizada a leitura em microscópio de epi-fluorescência Zeiss Axio Imager.A2, com o software ZEN 2.3 Pro®. da Metasystem.

#### 6.2.6 Hematologia

Foi realizado hemograma de todos os animais avaliados, segundo JAIN (1993). Foi utilizado contador automático de células (SDH3 Labtest) para contagem de eritrócitos e leucócitos totais, volume globular, concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Foram utilizados esfregaços sanguíneos corados com kit Panótipo Rápido® (Newprov) para contagem diferencial de leucócitos. Foi utilizada refratometria (ATAGO) para determinação de proteína total plasmática (PTP) e fibrinogênio plasmático.

#### 6.2.7 Bioquímica sérica

A análise do perfil bioquímico sérico foi realizado por meio de métodos cinético e colorimétrico em analisador bioquímico automático Labmax Plenno® (v2.09.05), avaliando atividade enzimática da gamaglutamiltransferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), alanino aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA),

creatina fosfoquinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e concentrações séricas de ureia, creatinina, proteína total sérica, albumina, globulina, colesterol, triglicerídeos e glicose.

#### 6.2.8 Análise Estatística

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk. A comparação das médias das variáveis hematológicas, bioquímicas e de prevalência foi realizada por meio de teste t. A análise dos fatores de risco foi realizada por meio dos testes qui-quadrado e análise de regressão logística. Para todos os testes admitiu-se probabilidade de erro de 5%.

#### 6.2.9 Comitê de Ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) sob número de protocolo 5285200720 (ANEXO II); e no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) sob o CAE nº 48542021.4.0000.0118 (ANEXO III).

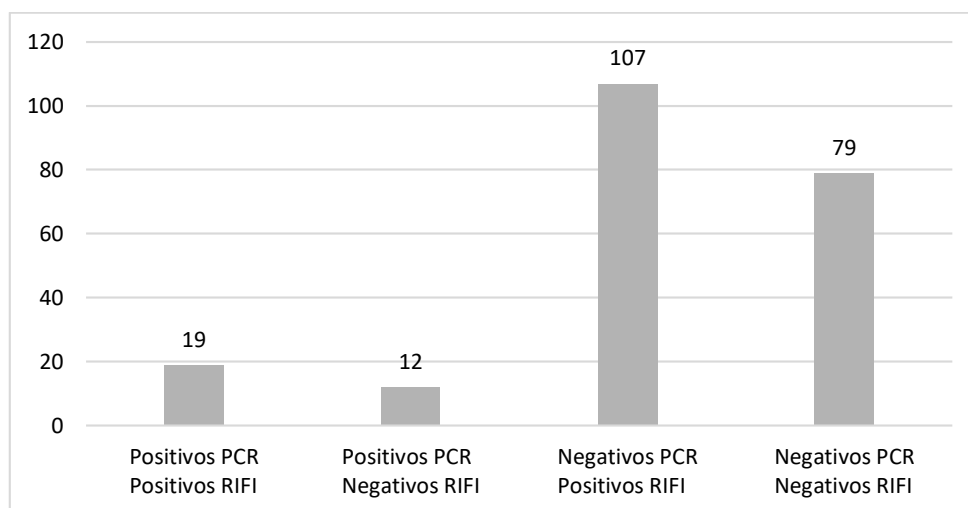
### 6.3 RESULTADOS

#### 6.3.1 Prevalência

Dos animais avaliados, 14% (31/214) foram positivos para *T. evansi* na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), e 59% (126/214) na Imunofluorescência Indireta (RIFI).

As amostras positivas nos dois testes (PCR e RIFI) representaram 9% (19/214), e 37% (79/214) foram negativos em ambos os testes (Gráfico 1). Em todas as propriedades coletadas houveram animais positivos em pelo menos um dos testes. Os dados de prevalência por estado estão representados na Tabela 1. A distribuição da prevalência conforme sexo está representada na Tabela 2, e conforme idade na Tabela 3.

**Gráfico 1.** Número de casos positivos e negativos diagnosticados pelos métodos PCR e RIFI para o agente *T. evansi*, equinos da raça Campeiro, nos estados de Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.



**Tabela 1.** Prevalência de *T. evansi* em equinos da raça Campeiro nos estados de Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, pelas técnicas de PCR e RIFI.

	PCR	RIFI
<b>Paraná</b>	0% (0/18)	94% (17/18)
<b>Rio Grande do Sul</b>	8% (7/86)	53% (46/86)
<b>Santa Catarina</b>	22% (24/110)	40% (44/110)

**Tabela 2.** Prevalência de *T. evansi* em equinos da raça Campeiro em machos e fêmeas, pelas técnicas de PCR e RIFI.

	PCR	RIFI
<b>Machos</b>	12% (6/50)	56% (28/50)
<b>Fêmeas</b>	15% (25/164)	60% (98/164)

**Tabela 3.** Prevalência de *T. evansi* em equinos da raça Campeiro conforme a idade, divididos em jovens, adultos e idosos pelas técnicas de PCR e RIFI.

	PCR	RIFI
<b>Jovens (0-4 anos)</b>	15% (12/81)	56% (45/81)
<b>Adultos (5-18 anos)</b>	13% (16/119)	60% (72/119)
<b>Idosos (&gt;19 anos)</b>	21% (3/14)	64% (9/14)

### 6.3.2. Hematologia e Bioquímica

Foi realizada comparação na hematologia e bioquímica entre animais positivos e negativos na técnica de PCR. Os animais não apresentavam sintomatologia. Foi observada diferença ( $p < 0,05$ ) no hematócrito, na contagem de basófilos e no fibrinogênio, que foi inferior nos animais positivos (Tabela 4). As variáveis encontraram-se dentro dos valores de referência para a raça (FONTEQUE et. al., 2016), exceto a contagem de basófilos de animais positivos, que ficou acima do valor de referência.

**Tabela 4.** Valores médios e desvios-padrão do hemograma, concentração de proteína total plasmática e fibrinogênio plasmático de 214 animais da raça Campeiro, positivos e negativos para a infecção natural por *Trypanosoma evansi* nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, Brasil.

Variáveis	Positivos	Negativos	P
<b>Eritrócitos (<math>\times 10^6/\mu\text{L}</math>)</b>	8,37 $\pm$ 1,01	8,56 $\pm$ 1,23	0,605
<b>Hb (g/dL)</b>	11,88 $\pm$ 1,66	12,17 $\pm$ 6,23	0,311
<b>VG (%)</b>	38,55 $\pm$ 5,18	36,72 $\pm$ 4,51	0,025**
<b>VGM (fL)</b>	46,41 $\pm$ 6,46	43,31 $\pm$ 4,74	0,002*
<b>CHGM (%)</b>	30,87 $\pm$ 2,35	33,50 $\pm$ 20,83	0,173
<b>Plaquetas (<math>\times 10^3/\mu\text{L}</math>)</b>	151,58 $\pm$ 48,76	147,04 $\pm$ 55,88	0,883
<b>Leucócitos Totais (<math>/\mu\text{L}</math>)</b>	9657,10 $\pm$ 2369,31	10526,70 $\pm$ 2853,10	0,155
<b>Bastonetes (<math>/\mu\text{L}</math>)</b>	4,04 $\pm$ 22,50	2,41 $\pm$ 16,89	0,712
<b>Segmentados (<math>/\mu\text{L}</math>)</b>	4627,97 $\pm$ 1524,09	4988,95 $\pm$ 1752,16	0,207
<b>Linfócitos (<math>/\mu\text{L}</math>)</b>	4219,73 $\pm$ 1602,01	4669,08 $\pm$ 1933,24	0,290
<b>Eosinófilos (<math>/\mu\text{L}</math>)</b>	473,36 $\pm$ 398,17	473,64 $\pm$ 410,49	0,872
<b>Basófilos (<math>/\mu\text{L}</math>)</b>	126,13 $\pm$ 182,19	60,32 $\pm$ 162,34	0,003**



<b>Monócitos (/μL)</b>	309,43±217,52	331,21±287,09	0,899
<b>PTP</b>	7,40±0,75	7,26±0,66	0,290
<b>Fibrinogênio</b>	277,42±170,70	368,11±163,88	0,001**
<b>RDW</b>	18,98±0,87	18,88±1,73	0,979

\*Indica diferença significativa entre os grupos pelo Teste-t \*\*Indica diferença significativa entre os grupos pelo teste de Mann-Whitney.

Na bioquímica sérica, ALT, AST e ureia, mostraram diferença ( $p < 0,05$ ), sendo os positivos com valores menores, e CK e creatinina, cujos valores de positivos foram maiores (Tabela 5). Os valores da bioquímica sérica permaneceram dentro dos intervalos de referência para a raça (SOUZA et. al., 2016), exceto ALT, que foi superior, tanto para positivos quanto para negativos, e CK, que foi superior nos animais positivos.

**Tabela 5.** Valores médios e desvios-padrão da bioquímica sérica de 214 animais da raça Campeiro, positivos e negativos para a infecção natural por *Trypanosoma evansi* nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.

<i>Variáveis</i>	<i>Positivos</i>	<i>Negativos</i>	<i>P</i>
<b>Proteína</b>	6,79±1,09	7,21±1,16	0,060
<b>Triglicerídeos</b>	15,55±13,08	16,46±11,50	0,567
<b>Colesterol</b>	82,74±19,81	87,55±21,03	0,24
<b>Albumina</b>	2,34±0,46	2,46±0,40	0,272
<b>ALT</b>	10,39±5,59	11,47±4,25	0,038**
<b>AST</b>	180,77±50,23	252,05±105,53	<0,001**
<b>GGT</b>	16,19±6,69	19,74±20,34	0,124
<b>CK</b>	474,68±284,66	342,55±242,12	0,003**
<b>FA</b>	328,74±120,59	301,92±107,14	0,132
<b>Creatinina</b>	1,64±0,50	1,43±0,31	0,020**
<b>Uréia</b>	35,42±9,86	42,40±12,99	0,020**

\*Indica diferença significativa entre os grupos pelo Teste-t \*\*Indica diferença significativa entre os grupos pelo teste de Mann-Whitney.

### 6.3.3 Fatores associados à infecção

Os questionários realizados com os proprietários dos animais continham perguntas sobre o manejo, origem, e sanidade dos animais. Nenhum desses fatores apresentou diferença significativa em teste qui-quadrado (Tabela 6).

**Tabela 6.** Fatores avaliados nos questionários epidemiológicos realizados com proprietários de equinos da raça Campeiro, positivos e negativos para infecção natural por *T. evansi*, nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.

Questionário		Trypanosoma		p
		positivos	negativos	
Nº de animais na propriedade	< 10 animais	6	13	0,213
	11 - 20 animais	1	24	
	21 - 30 animais	16	43	
	41 - 50 animais	0	20	
Categorias presentes	Jovens < 4 anos	0	2	0,238
	Adultos 5-15 anos	0	6	
	Todas categorias	22	82	
	Jovens + Adultos	1	10	
Categoria predominante	Jovens < 4 anos	0	27	1
	Adultos 5-15 anos	23	74	
Sexo predominante	Fêmeas	18	96	1
	Nº equivalentes	5	4	
Origem dos animais	Nasceu na propriedade	17	60	0,35
	Veio de outras propriedades	0	2	
	Todas categorias	4	2	
	Nasceu na propriedade + Veio de outras propriedades	1	32	
	Nasceu na propriedade + Veio de outros municípios	1	4	
Tipo de alimentação	Pasto nativo	1	11	0,324
	Pasto formado	1	5	
	Todas categorias	4	2	
	Pasto nativo + formado	12	62	
	Ração + pasto nativo	5	2	
	Ração + feno + formado	0	18	
Sistema de criação	Extensivo	19	54	0,199
	Semi-intensivo	4	40	
	Extensivo + Semi-intensivo	0	6	
Uso dos animais	Trabalho	0	7	0,279
	Reprodução	1	5	

	<b>Todas categorias</b>	4	2	
	<b>Trabalho + Reprodução</b>	17	48	
	<b>Lazer + Trabalho + Reprodução</b>	1	14	
	<b>Lazer + Esporte + Reprodução</b>	0	18	
	<b>Esporte + Reprodução</b>	0	6	
<b>Participa de eventos</b>	<b>Sim</b>	23	83	1
	<b>Não</b>	0	17	
<b>Contato com equinos de outras propriedades</b>	<b>Sim</b>	11	43	1
	<b>Não</b>	12	57	
<b>Há entrada e saída para reprodução</b>	<b>Não</b>	17	53	0,199
	<b>Sim, entra</b>	0	6	
	<b>Sim, entra e sai</b>	6	41	
<b>Presença de outros animais na propriedade</b>	<b>Bois+Ovinos+Cães+Gatos</b>	6	63	0,263
	<b>Bois+Cães+Gatos</b>	0	23	
	<b>Asininos + Muares + Bois+Ovinos+Cães+Gatos</b>	4	2	
	<b>Cães + Gatos</b>	1	5	
	<b>Bois + Ovinos + Cães</b>	5	2	
	<b>Bois+Ovinos+Caprinos+Cães+Gatos</b>	7	5	
<b>Há silvestres na proximidade</b>	<b>Sim</b>	23	100	1
	<b>Não</b>	0	0	
<b>Quais animais silvestres</b>	<b>Todos</b>	5	31	0,425
	<b>Capivara+Cervídeos+Javali+Gambá+Zorrilho</b>	4	7	
	<b>Gambá+Zorrilho+Outros</b>	1	14	
	<b>Gambá + Zorrilho</b>	1	5	
	<b>Cervídeos+Javali+Canídeos+Gambá+Zorrilho</b>	5	2	
	<b>Cervídeos+Javali+Felídeos+Canídeos+Gambá+Zorrilho</b>	0	2	
	<b>Capivara+Cervídeo+Javali+Canídeos+Gambá+Zorrilho</b>	7	5	
	<b>Capivara+Javali+Quati+Felídeos+Gambá+Zorrilho+Outros</b>	0	10	
	<b>Capivara+Cervídeos+Quati+Gambá+Zorrilho+Outros</b>	0	6	
	<b>Capivara+Cervídeos+Quati+Felídeos+Canídeos+Gambá+Outros</b>	0	18	
<b>Morcegos hematófagos</b>	<b>Sim</b>	11	53	1
	<b>Não</b>	12	47	
<b>Mosquitos</b>	<b>Sim</b>	23	100	1
	<b>Não</b>	0	0	
<b>Quais mosquitos</b>	<b>Mosca doméstica</b>	0	10	0,241

	<b>Todas categorias</b>	16	17	
	<b>Mutucas+Mosca do chifre+Mosca doméstica</b>	6	50	
	<b>Mutuca + Doméstica</b>	0	18	
	<b>Moscas do estábulo+Mosca doméstica</b>	1	5	
<b>Carrapatos</b>	<b>Sim</b>	12	70	1
	<b>Não</b>	11	30	
<b>Faz uso de endoparasitários</b>	<b>Sim</b>	23	100	1
	<b>Não</b>	0	0	
<b>Se usa endoparasitas, qual frequência</b>	<b>Anual</b>	0	25	0,199
	<b>Semestral</b>	7	17	
	<b>Trimestral</b>	16	58	
<b>Quais ativos</b>	<b>Avermectinas</b>	11	55	0,263
	<b>Organofosforados</b>	5	2	
	<b>Outros</b>	1	15	
	<b>Avermectinas + Piperazinas</b>	1	14	
	<b>Avermectinas +Praziquantel</b>	5	8	
	<b>Avermectinas + Organofosforados</b>	0	6	
<b>Faz controle de carrapatos + moscas</b>	<b>Sim</b>	23	88	1
	<b>Não</b>	0	12	
<b>Quais ativos</b>	<b>Piretroides</b>	11	27	0,22
	<b>Avermectinas</b>	4	13	
	<b>Piretroides + Outros</b>	1	5	
	<b>Outros</b>	7	43	
	<b>Não usa</b>	0	12	
<b>Em que época realiza controle</b>	<b>Primavera</b>	0	18	0,293
	<b>Verão</b>	0	31	
	<b>Outono</b>	4	2	
	<b>Todas categorias</b>	4	7	
	<b>Verão + Inverno</b>	1	14	
	<b>Primavera + Verão + Outono</b>	7	11	
	<b>Verão + Outono</b>	7	5	
	<b>Não realiza</b>	0	12	
<b>Animais são vacinados</b>	<b>Sim</b>	21	32	1
	<b>Não</b>	2	68	
<b>Se vacina, com quais</b>	<b>Raiva</b>	9	4	0,273
	<b>Leptospirose</b>	7	5	
	<b>Raiva+Leptospirose</b>	4	7	
	<b>Influenza + Tétano + Encefalomielite</b>	0	5	

	<b>Influenza+Tétano+Encefalomielite+Rinopneumonite</b>	1	5	
	<b>Influenza+Garrotilho</b>	0	6	
	<b>Não vacina</b>	2	68	
<b>Há compartilhamento de instrumentos</b>	<b>Sim (encilhas + bridões)</b>	8	81	0,199
	<b>Sim (agulhas + seringas)</b>	0	5	
	<b>Sim (tudo)</b>	15	14	
<b>Sinais neurológicos</b>	<b>Sim</b>	0	20	1
	<b>Não</b>	23	80	
<b>Sinais neurológicos</b>	<b>Incoordenação motora</b>	0	2	0,223
	<b>Sem sinais neurológicos</b>	23	80	
	<b>Paralisia dos membros pélvicos + Incoordenação morota</b>	0	18	
<b>Outros sinais clínicos</b>	<b>Sim</b>	12	43	1
	<b>Não</b>	11	57	
<b>Quais sinais</b>	<b>Lacrimejamento</b>	12	23	0,199
	<b>Sem sinais neurológicos</b>	11	57	
	<b>Emagrecimento + Edema de membros</b>	0	20	

## 7. DISCUSSÃO

As prevalências encontradas nesse trabalho foram de 14% na PCR, e 59% na RIFI. De acordo com nosso conhecimento não foram encontrados artigos determinando a prevalência de *T. evansi* na região Sul do Brasil, onde existem apenas relatos de surtos em equinos e casos isolados, nos municípios de Cruz Alta, São Sepé, Alegrete e São Vicente do Sul, todos no Rio Grande do Sul (SILVA et al., 2010).

Trabalhos realizados em outros locais encontraram prevalência de *Trypanosoma spp.* 50,37% pelo método ELISA e 18,84% pelo método RIFI, em cavalos da raça Baixadeiro, no Maranhão (FERREIRA et al., 2018); 5,24% de equinos soropositivos para *T. evansi* via ELISA na Índia (YADAV et al., 2019). Na Palestina, 17% dos cavalos avaliados por PCR para *T. evansi* se mostraram positivos (EREQAT et al., 2020). Na Espanha, após surto de *T. evansi*, os demais equinos de uma fazenda foram testados, e 2% apresentaram resultado positivo em CATT, PCR e microhematócrito (TAMARIT, et al., 2010).

Entre as técnicas diretas para diagnóstico de *T. evansi*, a observação em esfregaço, apesar de ser mais simples e barata, é menos sensível, funcionando apenas quando existe alta parasitemia, geralmente na fase aguda da doença, enquanto PCR detecta concentrações mínimas de DNA do parasita, mesmo em períodos pré-patente e crônico, além de possuir alta especificidade (FERNÁNDEZ et al., 2009).

A RIFI é uma das técnicas mais utilizadas para detecção de *T. evansi*, com alta sensibilidade, chegando a 95%, semelhante a ELISA. A partir do oitavo dia após infecção, via RIFI já é possível a detecção de anticorpos, que tem aumento significativo após quatro semanas, e se mantêm em níveis elevados por um longo período (MARQUES et al., 2001). Porém, tem sido observada baixa especificidade utilizando RIFI, devido ao alto índice de reações cruzadas, com outros tripanossomídeos, e outros gêneros, como *Leishmania* (LUCIANO et al, 2009). Essa diferença de especificidade entre PCR e RIFI, associada à diferença no período de detecção entre as técnicas, explicam a mínima concordância nos resultados das duas técnicas encontrados.

Os equinos avaliados nesse estudo eram aparentemente saudáveis, indicando possivelmente infecções subclínicas. Os sinais clínicos observados nos casos do Rio Grande do Sul foram emagrecimento progressivo, letargia, incoordenação motora, instabilidade e atrofia dos membros pélvicos, dificuldade para levantar, fraqueza muscular, palidez das mucosas, edema subcutâneo e abortamento, em alguns casos ataxia, andar em círculos, hiperexcitabilidade, cabeça inclinada, pressão da cabeça contra obstáculos e movimentos de pedalagem (SILVA et al., 2010). MARQUES et al. (2000) observaram também hipertermia, redução de apetite e paralisia.

Alterações hematológicas observadas em outros trabalhos, onde os animais apresentavam sinais clínicos, incluíram anemia, sendo essa a alteração mais comum, e alterações leucocitárias (neutropenia, neutrofilia, monocitose, linfopenia, linfocitose e linfócitos atípicos) (SILVA et al., 2010; NUNES et al., 2012). MARQUES et al. (2000) também encontraram anemia, redução de volume globular e concentração de hemoglobina, além de neutrofilia e linfopenia. Nos animais avaliados nesse estudo isso não ocorreu, sendo que o hematócrito ficou acima do valor de referência, e foi encontrada basofilia nos animais positivos para *T. evansi*, possivelmente sem relação com a infecção, visto que os animais apresentavam-se assintomáticos, assim como a redução de ALT, AST e uréia, e aumento de CK e creatinina.

A alta prevalência encontrada neste estudo em comparação a estudos de prevalência de outras regiões, associada à ausência de sinais clínicos e alterações

hematológicas, sugerem que os equinos da raça Campeiro sofrem infecção por *T. evansi*, porém sem desenvolver sintomatologia, por se tratar de uma raça com alta rusticidade e adaptação local.

Não foi observada diferença em nenhum dos parâmetros avaliados como possíveis fatores de risco, porém outros trabalhos encontraram diferenças, com relação à presença de outras espécies que podem atuar como reservatórios, incluindo cães, bovinos e capivaras, o trânsito de equinos entre propriedades, principalmente no período de monta, a época do ano, sendo que no verão a incidência é maior, devido ao aumento no número de insetos (SILVA et al., 2010).

Nas Filipinas, a infecção foi associada à importação de animais, e relacionadas ao aumento das temperaturas, decorrente do aquecimento global, trará sérios riscos em virtude do aumento de vetores tabanídeos (REID, 2002). A infestação por carrapatos, faixa etária, área geográfica também foram citados como fatores de risco (COSTA et al., 2019). BENAÏSSA et al. (2020) citam ainda que sistemas intensivos e a alta concentração de animais aumentam as chances de infecção.

## 8 CONCLUSÃO

Conclui-se que a prevalência de *T. evansi* é alta em equinos da raça Campeiro presentes na região Sul do Brasil, mesmo em animais sem sinais clínicos. Segundo nosso conhecimento esse é o primeiro trabalho de prevalência de *T. evansi* em equinos da região Sul, bem como em animais da raça Campeiro. Devido à ausência de sintomatologia nos animais avaliados, não foram encontradas alterações hematológicas e bioquímicas relacionadas à infecção por *T. evansi*. Os fatores de risco avaliados não mostraram relação com a presença de animais positivos para infecção natural por *T. evansi*.

## 9 REFERÊNCIAS

AREGAWI, W.G.; AGGA, G.E.; ABDI, R.D.; BUSCHER, P. Systematic review and meta-analysis on the global distribution, host range, and prevalence of *Trypanosoma evansi*. **Parasites & Vectors**, v.12, n.67, p.1-25, 2019.

BENAÏSSA, M. H.; MIMOUNE, N.; BENTRIA, Y.; KERNIF, T.; BOUKHELKHAL, A.; YOUNGS, C. R.; KAIDI, R.; FAYE, B.; HALIS, Y. Seroprevalence and risk factors for *Trypanosoma evansi*, the causative agent of surra, in the dromedary camel (*Camelus*

*dromedarius*) population in Southeastern Algeria. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.87, n.1, p.1-9, 2020.

BUSCHER, P.; GONZATTI, M.I.; HÉBERT, L.; INOUE, N.; PASCUCCHI, I.; SCHNAUFER, A.; SUGANUMA, K.; TOURATIER, L.; REET., N.V. Equine trypanosomosis: enigmas and diagnostic challenges. **Parasites and Vectors**, v.12, n.234, p.1-8. 2019.

CAMOIN, M.; KOCHER, A.; CHALERMWONG, P.; YANGTARRA, S.; KAMYINGKIRD, K.; JITTAPALAPONG, S.; DESQUESNES, M. The indirect ELISA *Trypanosoma evansi* in equids: optimisation and application to a serological survey including racing horses, in Thailand. **BioMed Research International**, v. 2019, n.4, p. 1-12, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2964639>.

CLAES, F.; RADWANSKA, M.; URAKAWA, T.; AO MAJIWA, P.; GODDEERIS, B.; B BÜSCHER, P. Variable Surface Glycoprotein RoTat 1.2 PCR as a specific diagnostic tool for the detection of *Trypanosoma evansi* infections. **Kinetoplastid Biology and Disease**, v.3, n.3, p.1-6, 2004.

COSTA, S. C. L.; FREITAS, J. S.; SILVA, A. N.; LACERDA, L. C.; CRUZ, R. D. S.; CARVALHO, F. S.; PEREIRA, M. J. S.; MUNHOZ, A. D. Frequency and factors associated with *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Trypanosoma evansi* in equids from Bahia (Northeast Brazil). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.28, n.1, p.1-12, 2019.

EREQAT, S.; NASEREDDIN, A.; AL-JAWABREH, A.; AL-JAWABREH, H.; AL-LAHAM, N.; ABDEEN, Z. Prevalence of *Trypanosoma evansi* in livestock in Palestine. **Parasites Vectors**, v.13, n.21, p.1-8, 2020.

FERNÁNDEZ, D.; GONZÁLEZ-BARADAT, B.; ELEIZALDE, M.; GONZÁLEZ-MARCANO, E.; PERRONE, T.; MENDOZA, M. *Trypanosoma evansi*: A comparison of PCR and parasitological diagnostic tests in experimentally infected mice. **Experimental Parasitology**, v.121, n.1, p.1-7, 2009.

FERREIRA, F. P.; CALDART, E. T.; BRITO, D. R. B.; CHAVES, D. P.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T. "Baixadeiros" horses: prevalence of anti-*Trypanosoma spp.* and anti-*Leishmania spp.* antibodies. **Ciência Animal Brasileira**, v.19, n.1, p.1-8, 2018.

FONTEQUE, J. H.; CECCATTO, M. L.; BAGIO, R. M.; SCHADE, J.; SAITO, M. E.; MARTINS, V. V.; FONTEQUE, G. V.; MARTINS, E.; RAMOS, A. F.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; COSTA, D.. Hematological profile, total plasma protein and fibrinogen concentrations of clinically healthy adult Campeiro horses. **Ciência Rural**, v.46, n.1, p.144-149, 2016.

IACUCa. Institutional Animal Care and Use Committee. **Anesthesia (Guidelines)**. Iowa City: IACUC, 2020. Disponível em: <<https://animal.research.uiowa.edu/iacuc-guidelines-anesthesia>>. Acesso em: 20/09/2021.

JAIN, N.C. **Essential of Veterinary Hematology**, Philadelphia. Lea & Febiger, 417 p. 1993.



LUCIANO, R. M.; LUCHEIS, S. B.; TRONCARELLI, M. Z.; LUCIANO, D. M.; LANGONI, H. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania spp* e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 181-187, 2009

MARQUES, L. C.; MACHADO, R. Z.; ALESSI, A. C.; AQUINO, L. P. C. T. Humoral immune response of horses experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n.2, p. 131-133, 2001.

NADEEM, A. et al. Indirect Fluorescent Antibody Technique based Prevalence of Surra in Equines. **Pakistan Veterinary Journal**, v.31, n.2, p.169-170, 2011.

NUNES, J. T. S.; SILVA, A. S.; DORNELES, F. S.; TONIN, A. A.; LAZZAROTTO, C.; MILETTI, L. C. MONTEIRO, S. G. Occurrence of *Trypanosoma evansi* in Horses in the State of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.32, n. 4, p.205-207, 2012.

OPAS (Organización Panamericana de la Salud). Bioestadística: procedimientos para estudios de prevalencia por muestreo. **Buenos Aires: Organización Panamericana de la Salud**, n.18, 1979.

REID, S. A. *Trypanosoma evansi* control and containment in Australasia. **Trends in Parasitology**. v.18, n.5, p.219-224, 2002.

RODRIGUES, A.; FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; SCHILD, A.L.; SOARES, M.P.; MILANO, J.; BARROS, C.S.L. Surtos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em equinos no Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.239-249, 2005.

SAMBROOK, J.F.; RUSSELL, D.W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SILVA, A.S.; ANDRADE NETO, O.A.S.; COSTA, M.M.; WOLKMER, P.; MAZZANTTI, C.M., SANTURIO, J.M.; LOPES, S.T.A.; MONTEIRO, S.G.; Tripanossomose em equinos na região sul do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.38, n.2, p.113-120, 2010.

SOUZA, A. F.; FONTEQUE, J. H.; COSTA, D. Cavalos Campeiros: Passado, presente e futuro do Marchador das Araucárias. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v.16, ed esp.2. p.1 – 12, 2018.

SOUZA, A. F.; SCHADE, J.; KUNZ, J. R.; RAMOS, A. F.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; FONTEQUE, G. V.; COSTA, D.; SAITO, M. E.; FONTEQUE, J. H. Perfil bioquímico sérico de equinos clinicamente saudáveis da raça Campeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, n.4, p.839-844, 2016.

TAMARIT, A.; GUTIERREZ, C.; ARROYO, R. JIMENEZ, V.; ZAGALA, G.; BOSCH, I.; SIRVENT, J.; ALBEROLA, J.; ALONSO, I.; CABALLERO, C. *Trypanosoma evansi* infection in mainland Spain. **Veterinary Parasitology**, v.167, n.1, p. 74-76, 2010.

YADAV, S. C.; KUMAR, P.; KHURANA, S.; KUMAR, R.; Seroprevalence of *Trypanosoma evansi* infection in equines of North and North Western states of India. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.79, p.63-67, 2019.

## ANEXO I

### QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO - Prevalência e fatores associados à infecção por *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* em equinos da raça Campeiro

Propriedade: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

- 1) Número de equinos existentes: ( ) menor que 10  
( ) 11-20 animais  
( ) 21-30 animais  
( ) 31-40 animais  
( ) 41-50 animais  
( ) 51-60 animais  
( ) 61-70 animais  
( ) 71-80 animais  
( ) 81-90 animais  
( ) 91-100 animais  
( ) mais que 100 animais
- 2) Categorias presentes na propriedade: ( ) jovens menor que 4 anos  
( ) adultos entre 5-15 anos  
( ) velhos acima de 16 anos
- 3) Categoria predominante na propriedade: ( ) jovens menor que 4 anos  
( ) adultos entre 5-15 anos  
( ) velhos acima de 16 anos
- 4) Sexo predominante na propriedade: ( ) Machos ( ) Fêmeas  
( ) Número equivalente
- 5) Origem dos animais: ( ) nascidos na propriedade  
( ) adquiridos de outras propriedades próximas  
( ) adquiridos de outros municípios
- 6) Sistema de criação: ( ) intensivo ( ) extensivo ( ) semi-intensivo
- 7) Tipo de alimentação: ( ) ração ( ) feno ( ) pastagem nativa ( ) pastagem formada
- 8) Utilização dos equinos: ( ) Lazer  
( ) Trabalho  
( ) Esporte  
( ) Reprodução
- 9) Os animais da propriedade participam de eventos? ( ) Sim ( ) Não

- 10) Existe contato com equinos de outras propriedades? ( ) Sim ( ) Não
- 11) Existe entrada ou saída de animais durante temporadas reprodutivas? ( ) Não  
( ) Sim, entrada  
( ) Sim, saída
- 12) Presença de outros animais na propriedade:  
( ) Asininos  
( ) Muares  
( ) Bovinos  
( ) Ovinos  
( ) Caprinos  
( ) Caninos  
( ) Felinos  
( ) Outros \_\_\_\_\_
- 13) Presença de animais silvestres nas proximidades? ( ) Sim ( ) Não
- 14) Se sim, quais? ( ) capivara  
( ) cervídeos  
( ) javali  
( ) quati  
( ) felídeos  
( ) canídeos  
( ) gambá  
( ) zorrilho  
( ) outros \_\_\_\_\_
- 15) Presença de morcegos hematófagos? ( ) SIM ( ) NÃO
- 16) Presença de mosquitos? ( ) SIM ( ) NÃO
- 17) Quais espécies são vistas na propriedade?  
( ) Mutucas (Tabanídeos)  
( ) Mosca dos estábulos (*Stomoxys calcitrans*)  
( ) Mosca do chifre (*Haematobia irritans*)  
( ) Mosca doméstica (*Musca domestica*)
- 18) Presença de carrapatos? ( ) SIM ( ) NÃO
- 19) Faz controle de endoparasitas? ( ) Sim ( ) Não
- 20) Se sim, qual a frequência? ( ) Anual  
( ) Semestral  
( ) Trimestral
- 21) Quais princípios ativos utiliza?  
( ) Avermectinas  
( ) Benzoimidazois

- Organofosforados
- Piperazinas
- Carbamatos
- Praziquantel

22) Utiliza algum produto para controle de moscas e carrapatos?  Sim  Não

- 23) Se sim, quais princípios são utilizados?  Organofosforados  
 Piretroides  
 Avermectinas

24) Em que época do ano são feitos os controles?  Primavera  Verão  
 Outono  Inverno

25) Vacinação dos animais?  Sim  Não

- 26) Se sim, quais?  Raiva  
 Influenza  
 Tétano  
 Encefalomielite  
 Rinopneumonite  
 Leptospirose  
 Garrotilho  
 Outra: \_\_\_\_\_

27) Há compartilhamento de instrumentos entre os animais?  Não  
 Sim, encilhas, bridões  
 Sim, agulhas e seringas

28) Histórico de animais com sinais neurológicos  Sim  Não

- 29) Se sim quais?  Ataxia  
 Paralisia de membros posteriores  
 Incoordenação motora

30) Histórico de animais com outros sintomas?  Sim  Não

- 31) Se sim, quais?  febre  
 emagrecimento  
 edema de membros  
 letargia  
 lacrimejamento  
 abortamento

## ANEXO II



**UDESC**  
UNIVERSIDADE  
DO ESTADO DE  
SANTA CATARINA

**LAGES**  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
AGROVETERINÁRIAS

**Comissão de Ética no  
Uso de Animais**

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Prevalência e fatores associados à infecção por *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* em equinos da raça Campeiro", protocolada sob o CEUA nº 5285200720 (00 001911), sob a responsabilidade de **Joandes Henrique Fontoque** e equipe; Lisiane Golombieski - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 24/07/2020.

We certify that the proposal "Prevalence and factors associated with infection by *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma vivax* in Campeiro horses", utilizing 220 Equines (males and females), protocol number CEUA 5285200720 (00 001911), under the responsibility of **Joandes Henrique Fontoque** and team; Lisiane Golombieski - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 07/24/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2020 a 08/2021**

Área: **Medicina Veterinária**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **1 a 360 meses**

N: **220**

Linagem: **Campeiro**

Peso: **30 a 700 kg**

Local do experimento: As coletas das amostras serão realizadas nas propriedades núcleos de conservação do cavalo Campeiro nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

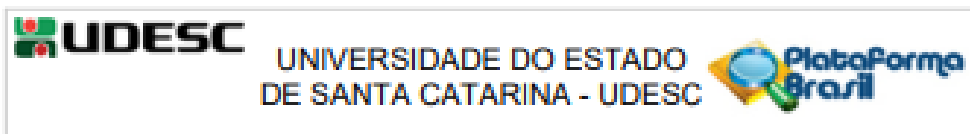
Lages, 24 de julho de 2020

Ubirajara Maciel da Costa  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

em aberto

Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

## ANEXO III



Continuação do Parecer: 4.893.122

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1772214.pdf	04/08/2021 15:58:56		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_Tripanossoma_Campeiro _corrigido.pdf	04/08/2021 15:58:06	Joandes Henrique Fonteque	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Campeiro_Tripanossoma_corrig ido.pdf	04/08/2021 15:57:46	Joandes Henrique Fonteque	Aceito
Outros	Carta_Respostas_a_pendencias_projeto Tripanossoma.pdf	04/08/2021 15:53:01	Joandes Henrique Fonteque	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRostoassinada.pdf	10/08/2021 15:46:06	Joandes Henrique Fonteque	Aceito
Outros	Questionario_Epidemiologico_Campeiro Tripanossom.pdf	09/08/2021 17:09:11	Joandes Henrique Fonteque	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANOPOLIS, 09 de Agosto de 2021

---

Assinado por:  
Gesilani Júlia da Silva Honório  
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Madre Benvenuta, 2007  
Bairro: Itacorubi CEP: 88.035-001  
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
Telefone: (48)3064-8084 Fax: (48)3064-8084 E-mail: cnp.udec@gmail.com

Página 07 de 07