

**ACETURATO DE DIMINAZENO NO TRATAMENTO DE EQUINOS INFECTADOS
NATURALMENTE POR *Trypanosoma evansi* NO MUNICÍPIO DE CRUZ ALTA - RS,
BRASIL**

Aleksandro Schafer da Silva¹
Régis Adriel Zanette²
Mateus Anderson Otto³
Lucas Trevisan Gressler³
Patrique de Lima Pereira³
Silvia Gonzalez Monteiro⁴

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi relatar a eficácia do aceturato de diminazeno no controle da infecção natural por *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) em eqüinos do município de Cruz Alta, Rio Grande do Sul. Na propriedade, ao realizar o exame clínico dos animais, observou-se que quatro deles apresentavam marcha oscilante com incoordenação dos membros posteriores. A confirmação do surto de tripanossomíase foi feita através de esfregaço sangüíneo periférico, onde se detectou a presença da forma flagelada do *T. evansi* em três dos eqüinos e isolamento da cepa em ratos Wistar inoculados com sangue de um dos animais. Todos os eqüinos da fazenda foram medicados com aceturato de diminazeno na dose de 7mg kg⁻¹ no dia em que se diagnosticou a enfermidade (dia zero) e posteriormente nos dias 7 e 14. Os animais apresentaram melhora crescente e 30 dias após a terapia não apresentavam sintomatologia da doença. No entanto, 90 dias após a primeira dose, a terapia teve que ser repetida em uma das éguas, pois esta teve recidiva dos sinais clínicos, apresentando manqueira, febre, anorexia e perda de peso. Um ano após a terapia os animais foram reavaliados a partir de exame físico e esfregaços sangüíneos, sendo constatado que os mesmos apresentavam ótimo estado nutricional e estavam livres do protozoário na circulação. Visto isso, considerou-se que o aceturato de diminazeno, no protocolo utilizado, apresentou eficácia curativa da tripanossomíase.

Palavras-chave: *Trypanosoma evansi*, mal das cadeiras, eqüinos, tratamento, aceturato de diminazeno.

**DIMINAZENE ACETURATE ON THE TREATMENT OF EQUINES NATURALLY
INFECTED BY *Trypanosoma evansi* IN THE MUNICIPALITY OF CRUZ ALTA – RS,
BRAZIL**

ABSTRACT

The aim of this study was to report the efficacy of diminazene aceturate on the control of equine trypanosomiasis by *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) in the municipality of Cruz Alta, Rio Grande do Sul state. Uncoordinated gait with instability of the hindlimbs were observed in four animals. The flagellated form of *T. evansi* was observed in peripheral blood smears and the strain was isolated after inoculation in Wistar rats with blood of one animal. All equines received three doses of 7mg kg⁻¹ of diminazene aceturate (days zero, 7th and 14th). No clinical signs of the disease were observed 30 days after the first dose, although 90 days after the beginning of the treatment the same therapy was repeated in one of the mares which showed uncoordinated gait, fever, anorexy and weight loss.

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria – RS, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS, Brasil.

³ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Santa Maria – RS, Brasil.

⁴ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM. 97105-900, Prédio 20, Sala 4232, Santa Maria – RS, Brasil. Autor para correspondência: sgmonteiro@uol.com.br. Fax: (55)3220-8958.

Physical examination and peripheral blood smears performed one year after the treatment showed great nutritional status and elimination of protozoa from peripheral blood circulation of all the four animals. We concluded that diminazene aceturate, in this protocol, was effective on the treatment of equine trypanosomiasis.

Key words: *Trypanosoma evansi*, “mal das cadeiras”, equines, treatment, diminazene aceturate.

DIMINAZENO ACETURADO EN EL TRATAMIENTO DE EQUINOS INFECTADOS NATURALMENTE POR *Trypanosoma evansi* EN MUNICÍPIO DE CRUZ ALTA - RS, BRASIL

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue relatar la eficacia del diminazeno aceturado en el control de la infección natural por *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) en equinos del municipio de Cruz Alta, Rio Grande do Sul. En la propiedad, al realizar el examen clínico de los animales, se observó que cuatro de ellos presentaban marcha oscilante con incoordinación de los miembros posteriores. La confirmación del primer episodio de tripanosomiasis fue hecha por método de frotis de sangre periférica, donde se detectó la presencia de la forma flagelada de *T. evansi* en tres de los equinos e aislamiento de la cepa en ratones Wistar inoculados con sangre de uno de los animales. Todos los equinos de la hacienda fueron medicados con diminazeno aceturado en la dosis de 7mg kg⁻¹ en el día en que se diagnosticó la enfermedad (día cero) y posteriormente el los días 7 y 14. Los animales presentaron mejora creciente y 30 días después a la terapia no presentaban sintomatología de la enfermedad. Sin embargo, 90 días después de la primera dosis, la terapia tuvo que ser repetida en una de las yeguas, pues esta tuvo recidiva de las señales clínicas, presentando claudicación, fiebre, anorexia y pérdida de peso. Un año después de la terapia los animales fueron reevaluados a partir de frotis de sangre y examen físico, siendo constatado que los mismos presentaban óptimo estado nutricional y estaban libres del protozoario en la circulación. De esta manera, se consideró que el diminazeno aceturado, en el protocolo utilizado, presentó eficacia curativa de la tripanosomiasis.

Palabras-clave: *Trypanosoma evansi*, mal de caderas, equinos, tratamiento, diminazeno aceturado.

Trypanosoma evansi é um protozoário da seção salivaria, causador da doença secularmente conhecida como mal de cadeiras em equinos no Pantanal Mato-grossense (SILVA et al., 2002). Este flagelado pode ser transmitido mecanicamente por insetos hematófagos das famílias Tabanidae e Muscidae e por morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*) (HOARE, 1972). Acredita-se que a transmissão por insetos seja a grande responsável pela ampla distribuição geográfica do parasito, embora as áreas de clima tropical, especialmente África e América latina são as de maior ocorrência da doença clínica (LUN e DESSER, 1995).

A tripanossomíase causa sinais clínicos em cavalos como anemia, edema de pernas e partes baixas, letargia, perda de apetite, emagrecimento, febre intermitente, lacrimejamento, aborto (SILVA et al., 1995a, 1995b), e, ocasionalmente, hemorragias na câmara anterior do olho (LOSOS, 1980). Nos estádios crônicos, os animais tornam-se fracos, as membranas mucosas encontram-se pálidas, alguns ictericos, com nódulos linfáticos superficiais intumescidos e apresentam incoordenação motora com paralisia dos membros posteriores (MONZON et al., 1991). Mahmoud e Gray (1980) descreveram que a doença é rapidamente fatal em cães, equinos e camelos.

O aceturato de diminazeno é o produto mais comumente usado no controle das tripanossomíases dos animais domésticos por apresentar alto índice terapêutico (PEREGRINE e MAMMAM, 1993). É uma diamidina que tem atividade tripanocida, babesicida e bactericida. Os fabricantes indicam uma dose única de 3,5mg kg⁻¹ para equinos, bovinos, ovinos e caninos, ocorrendo desaparecimento dos sinais clínicos em 24 horas (BRENDER et al., 1991), Já Silva et al. (2002), indicaram a dose única de 7mg kg⁻¹ para o tratamento de tripanossomíase. O objetivo desse trabalho foi relatar a eficácia do aceturato de diminazeno no controle da infecção natural por *T. evansi* em equinos.

Um surto de tripanossomíase ocorreu em janeiro de 2007, em uma fazenda com 13 equinos

(oito éguas adultas e cinco potros), no município de Cruz Alta, Rio Grande do Sul (ZANETTE et al., 2008). Conforme o proprietário, quatro das fêmeas haviam apresentado algumas semanas antes, marcha oscilante com incoordenação dos posteriores. No exame clínico, confirmou-se a observação do proprietário, no entanto, os animais encontravam-se em bom estado nutricional, sem febre, hidratados e alimentando-se normalmente. Das éguas que apresentaram a sintomatologia, duas delas eram animais que tinham parido há um mês.

Foram realizados esfregaços sanguíneos periféricos em oito éguas e em um potro com um mês de idade, filho de uma das fêmeas com incoordenação motora. Estes foram corados com panótico rápido e posteriormente avaliados em microscópio de luz em aumento de 1000 vezes. Três ratos (*Rattus norvegicus*) foram inoculados via intra-peritonal com sangue das éguas que apresentaram a sintomatologia clínica de enrijecimento do trem posterior, para confirmação do diagnóstico pela presença do flagelado na circulação dos roedores.

Nos esfregaços de sangue periférico, observou-se a forma tripomastigota do *T. evansi* em três dos nove equinos pesquisados, sendo duas fêmeas que apresentaram o sinal clínico e um potro sem sinais clínicos de doença. Após 10 dias da inoculação do sangue dos equinos nos ratos, visualizou-se o flagelado no esfregaço sanguíneo dos roedores confirmando-se o diagnóstico. O esfregaço sanguíneo contendo o parasito, também foi a forma de diagnóstico de outros dois surtos de tripanossomíase por *T. evansi* ocorridos no estado do Rio Grande do Sul (CONRADO et al., 2005; RODRIGUES et al., 2005).

Todos os equinos da propriedade, suspeitos e parasitados, foram medicados com aceturato de diminazeno na dose de 7 mg kg^{-1} no dia em que se diagnosticou a enfermidade (dia zero) e nos dias 7 e 14. Após a medicação, os animais com sinais clínicos apresentaram melhora crescente dos problemas locomotores e passados 30 dias da terapia, os mesmos não mais apresentavam incoordenação motora. Contudo, 90 dias após a primeira dose, a terapia teve que ser repetida em uma das éguas positiva para *T. evansi*, pois esta teve recidiva dos sinais clínicos apresentando febre, anorexia e perda de peso. Um ano depois da medicação todos os animais foram reavaliados a partir de esfregaços sanguíneos e exame físico, sendo constatado ótimo estado nutricional e ausência do protozoário no esfregaço sanguíneo. Entretanto, somente com esses exames não se pode afirmar que os animais estão livres do flagelado, embora estes tenham adquirido a cura clínica da doença. Em 2000, um surto de mal das cadeiras ocorreu em uma fazenda de equinos da Tailândia, onde 42% das éguas grávidas abortaram e 40% dos cavalos morreram. Todos os animais foram tratados com aceturato de diminazeno na dose de $3,5\text{ mg kg}^{-1}$ de peso corporal nos dias 0 e 41 do estudo. Amostras de sangue foram avaliadas semanalmente até o dia 56. Os resultados revelaram que a droga na dose utilizada pareceu ser eficaz no primeiro tratamento, pois o parasito desapareceu da circulação 24 horas após administração do fármaco, no entanto a parasitemia retornou no dia 7. Após novo tratamento, 50% dos cavalos e 25% das mulas estavam positivas para tripanossomíase 24h após a terapia (TUNTASUVAN et al., 2003).

Sobretudo, no presente estudo, as três doses de 7 mg kg^{-1} administradas em intervalos de 7 dias revelou eficácia curativa em 80% (4/5) dos equinos que apresentaram parasitemia e sinais clínicos da doença. Somente uma das éguas foi tratada novamente após 90 dias do início do surto, por motivo de recidiva da infecção ou reinfecção, sendo esse segundo tratamento, efetivo no controle da parasitemia. A cura clínica dos cavalos do presente trabalho, pode ter sido decorrente da concentração e do número de doses administradas, pois foi utilizado o dobro da dose do fármaco administrada no trabalho de Tuntasuvan et al. (2003). Pholpark et al. (1984), em infecção experimental de búfalos medicados com aceturato de diminazeno na dose de 5 mg kg^{-1} , verificaram a presença do protozoário após a terapia. Em vista disso, acredita-se que a dose administrada depende da espécie hospedeira, pois a dose eficiente para cães (SILVA et al. 2008b) pode não ser a mesma para equinos (TUNTASUVAN et al., 2003) e o protocolo comercial do aceturato de diminazeno para o tratamento das infecções por *Trypanosoma* spp. indica a dose de $3,5\text{ mg kg}^{-1}$ de peso corporal, o que não foi eficaz no controle da doença em ratos, cães, equinos e bovinos parasitados por *T. evansi* (TUNTASUVAN et al., 2003; COLPO et al., 2005; CONRADO et al., 2005; DOYLE, et al., 2007).

Na propriedade de Cruz Alta, todos os equinos foram medicados com diminazeno, inclusive os sádios (sem sintomatologia). Esta medida teve como objetivo a profilaxia da doença, buscando-se reduzir as chances de outros animais apresentarem quadro clínico da enfermidade. Neste estudo o protocolo utilizado foi eficiente, pois nenhum animal sadio adoeceu após a medicação. Já Tuntasuvan

et al. (2003) não obtiveram sucesso profilático, pois o número de animais positivos aumentou após primeiro tratamento utilizando-se a mesma droga do presente trabalho, na dose de 3,5 mg kg⁻¹. Conforme Seidl et al. (1998) o aceturato de diminazeno só é eficiente como agente profilático quando administrado em intervalos de 21 dias, tempo máximo de permanência de resíduos no corpo de mamíferos. No Pantanal Mato-grossense esta droga é utilizada por vários fazendeiros, no tratamento profilático da enfermidade (SILVA et al., 2002). A terapia é considerada eficaz, pois reduz efetivamente o número de animais mortos nessa região endêmica, minimizando os prejuízos dos pecuaristas (SEIDL et al., 1998).

Silva et al. (2008a) avaliaram a eficácia do aceturato de diminazeno nas doses de 3,5 e 7 mg kg⁻¹, em intervalos de 24 horas, por cinco dias consecutivos em ratos infectados experimentalmente por *T. evansi*. Os autores observaram que a droga eliminou a forma tripomastigota da circulação e os ratos foram considerados curados após 90 dias do início do tratamento. Em outro estudo Doyle et al. (2007) verificaram que a dose única de 3,5 mg kg⁻¹ de aceturato de diminazeno em ratos infectados experimentalmente com o flagelado acarretou na recidiva da parasitemia após 25 dias.

É importante ressaltar que as três doses administradas não causaram toxicidade aparente para os eqüinos, já Tuntasuvan et al. (2003) reportaram que os animais apresentaram graves sinais de toxicidade como anorexia e apatia depois de tratados com aceturato de diminazeno. A análise de creatinina confirmou a toxicidade do fármaco, pois se observou aumento dos níveis séricos na corrente sanguínea (TUNTASUVAN et al., 2003).

Neste estudo não se pode afirmar que os animais estão livres da infecção pelo protozoário, mas sim que ocorreu a cura clínica da enfermidade. Para isto, seria necessária inclusão de outras técnicas de diagnóstico, além da pesquisa do flagelado no sangue, a fim de confirmar a eliminação do mesmo como, análise do líquido cefaloraquidiano e linfonodos (JAIN, 1993), culturas sanguíneas, inoculação em animais de laboratório, PCR e testes sorológicos. Tubos de micro-hematócrito podem ser examinados diretamente sob a luz do microscópio óptico (WERNERY et al., 2001) e coloração da capa flogística pode ser realizada para aumentar as chances de observação dos protozoários (MURRAY et al., 1981). Os exames citados acima não foram efetuados devido os elevados custos e de não estarem disponíveis na instituição de pesquisa.

Concluiu-se, que o protocolo instituído aos eqüinos neste trabalho, foi eficaz no controle da doença clínica por *T. evansi*, pois decorrido um ano do surto, os animais encontravam-se livres do parasito na circulação e em ótimo estado nutricional. O uso profilático dessa droga também foi favorável, sendo que nenhum cavalo da propriedade adoeceu após o surto. Técnicas de diagnóstico mais sensível deveriam ter sido aplicadas neste caso para confirmar a cura definitiva dos animais.

REFERÊNCIAS

BRENDER, G.C.; PUGH, D.M.; BYWATER, R.J.; JENKINS, W.L. **Veterinary applied pharmacology & therapeutics**. 5.ed. Toronto: Ballière Tindall/Saunders, 1991. 624p.

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

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

DOYLE, R.L.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G.; SANTURIO, J.M.; GRAÇA, D.L. Eficácia de medicamentos no controle da infecção experimental por *Trypanosoma evansi* em ratos. **Acta Scient. Vet.**, v.35, p.67-71, 2007.

HOARE, C.A. **The Trypanosomes of mammals: a zoological monograph**. Oxford: Blackwell, 1972. 749p.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Fabinger, 1993. 417p.

LOSOS, G.J. Diseases caused by *Trypanosoma evansi*, a review. **Vet. Res. Commun.**, v.4, p.165-181, 1980.

LUN, Z.R.; DESSER, S.S. Is the broad range of hosts and geographical distribution of *Trypanosoma evansi* attributable to the loss of maxicircle kinetoplast DNA? **Parasitol. Today**, v.11, p.131-133, 1995.

MAHMOUD, M.M.; GRAY, A.R. Trypanosomiasis due to *Trypanosoma evansi* (Steel, 1985) Balbiani, 1888; A Review of Recent Research. **Trop. Anim. Health Prod.**, v.12, p.35-47, 1980.

MONZON, C.M.; VILLAVICENCIO, V.I.; ROUX, J.P.; MANCEBO, O.A. Estudios hematológicos en cobayos y equinos infectados con el *Trypanosoma evansi* (Steel 1885). **Vet. Argent.**, v.8, p.668-676, 1991.

MURRAY, M.; CLIFFORD, D.J.; GETTINBY, G.; SNOW, W.F.; MCINTYRE, W.I.M. Susceptibility to African trypanosomiasis of N'Dama and Zebu cattle in na area of *Glossina morsitans submorsitans* challenge. **Vet. Rec.**, v.109, p.503-510, 1981.

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

PHOLPARK, S.; PHOLPARK, M.; SARATAPHAN, S.; KHUNPASI, S.; TABORAN, P. *Trypanosoma evansi* infection in buffalo in Northeast Thailand. 2. Experimental study. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE THAILAND VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION, 11., 1984, Thailand. Proceedings...Thailand, 1984. p.44-45.

RODRIGUES, A.; FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; SCHILD, A.L.; SOARES, M.P.; MILANO, J.; BARROS, C.S.L. Outbreaks of Trypanosomiasis in horses by *Trypanosoma evansi* in the state of Rio Grande do Sul, Brazil: epidemiological, clinical, hematological, and pathological aspects. **Pesq. Vet. Bras.**, v.25, p.239-249, 2005.

SEIDL, A.; MORAES, A.S.; AGUILAR, R.; SILVA, M.S. A financial analysis of treatment strategies for *Trypanosoma evansi* in the Brazilian Pantanal. **Prev. Vet. Med.**, v.33, p.219-234, 1998.

SILVA, R.A.M.S.; HERRERA, M.M.; DOMINGOS, L.B.S. Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and horses: hematological and clinical aspects. **Cienc. Rural**, v.25, p.233-238, 1995a.

SILVA, R.A.M.S.; BARROS, A.T.M.; HERRERA, H.M. Trypanosomosis outbreaks due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal: a preliminary approach on risk factors. **Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.**, v.4, p.315-319, 1995b.

SILVA, R.A.M.S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* – **Biologia, Diagnóstico e Controle**. Embrapa, 2002. 167p. Disponível em:<<http://www.embrapa.com>>. Acesso em: 12 dez. 2006.

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. **Cienc. Rural**, v.38, p.1357-1362, 2008a.

SILVA, A.S.; ZANETTE, R.A.; COLPO, C.B.; SANTURIO, J.M.; MONTEIRO, S.G. Sinais clínicos em cães naturalmente infectados por *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Clin. Vet.**, v.13, p.66-68, 2008b.

TUNTASUVAN, D.; JARABRUM, W.; VISESHAKUL, N.; MOHKAEW, K.; BORISUTSUWAN, S.; THEERAPHAN, A.; KONGKANJANA, N. Chemotherapy of surra in horses and mules with diminazene aceturate. **Vet. Parasitol.**, v.110, p.227-233, 2003.

WERNERY, U.; ZACHARIAH, R.; MUMFORD, J.A.; LUCKINS, T. Preliminary evaluation of diagnostic tests using horses experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. **Vet. J.**, v.161, p.287-300, 2001.

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

Recebido em: 19/03/2008

Aceito em: 11/09/2008