

ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS EM COELHOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE PELO *Trypanosoma evansi*

ALEKSANDRO S. DA SILVA¹; MARCIO M. COSTA¹; JULIANA F. CARGNELUTTI¹;
SONIA TEREZINHA DOS A. LOPES²; SILVIA G. MONTEIRO³

ABSTRACT:- SILVA, A.S. DA; COSTA, M.M.; CARGNELUTTI, J.F.; LOPES, S.T. DOS A.; MONTEIRO, S.G. [Biochemical changes in rabbits experimentally infected by *Trypanosoma evansi*.] Alterações bioquímicas em coelhos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma evansi*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 1, p. 43-46, 2007. Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria, Prédio 20, Sala 4232. Faixa de Camobi, Km 9, Campus Universitário, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: sgmonteiro@uol.com.br

The purpose of the present paper has been evaluating the biochemical changes in rabbits experimentally infected by *Trypanosoma evansi*. Six male rabbits, separated in two groups, were used with the group A, the control group, being composed by non-infected animals and the group B composed by rodents infected with a *T. evansi* stump. The animals were maintained at room temperature and they have been analyzed during 120 days through 5 blood collections on days 1, 20, 40, 60 and 120. The biochemical changes observed in the infected rabbits were hyperproteinemia, hyperglobulinemia, increase on the urea levels, and significant decrease on ALT and albumin. The creatinine remained within the normality parameters. The rodents belonging to the group B have shown biochemical changes even after 80 days when the protozoon was not observed in the circulation anymore.

KEY WORDS: *Trypanosoma*, rabbit, biochemical changes, experimentally infected.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações bioquímicas em coelhos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma evansi*. Foram utilizados seis coelhos, machos, divididos em dois grupos, sendo o grupo A, grupo controle, composto de animais não infectados e o grupo B formado por roedores infectados com uma cepa de *T. evansi*. Os animais foram mantidos em temperatura ambiente e analisados por 120 dias, através de cinco coletas de sangue nos dias 1, 20, 40, 60 e 120. As alterações bioquímicas observadas nos coelhos infectados foram hiperproteinemia, hiperglobulinemia, aumento nos níveis de uréia, redução significativa da ALT e albumina. A creatinina manteve-se dentro dos parâmetros da normalidade. Os roedores do grupo B apresentaram altera-

ções bioquímicas mesmo após 80 dias quando não foi mais observado o protozoário na circulação.

PALAVRAS-CHAVE: *Trypanosoma*, coelho, alterações bioquímicas, infecção experimental.

INTRODUÇÃO

Trypanosoma evansi é um protozoário digenético da seção salivaria, agente etiológico da doença conhecida como mal das cadeiras em equinos (SILVA et al., 2002). Tem distribuição geográfica mundial, sendo comumente observado parasitando o sangue de cavalos, camelos, burros, bovinos, zebuínos, caprinos, suínos, cães, búfalos, elefantes, capivaras, quatis, antas, veados, pequenos roedores silvestres e o homem (SILVA et al., 2002; JOSHI et al., 2005). Os tripomastigotas presentes nos vasos sanguíneos de vertebrados são transmitidos por insetos hematófagos (*Tabanus* sp., *Chrysops* sp. e *Hematopota* sp.) durante repasto sanguíneo.

Anemia, característica comum das infecções por tripanosomas, é de natureza hemolítica em resultado à eritrofagocitose no baço, fígado, pulmões, linfonodos, medula óssea e circulação (JAIN, 1993) que ocorreu devido a ação traumática direta dos protozoários sobre as hemácias aumen-

¹ Bolsista de Iniciação Científica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

² Departamento de Pequenos Animais da UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFSM, Prédio 20, Sala 4232, Faixa de Camobi, Km 9, Campus Universitário, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil. E-mail: sgmonteiro@uol.com.br

tando a fragilidade celular (HOLWIL, 1965) e pela aderência dos antígenos de tripanosomas na membrana das hemácias, o que as torna susceptíveis à fagocitose (HERBERT; INGLIS, 1973). Infecções crônicas são associadas com aumento na produção de gamaglobulinas, refletindo em aumento na mensuração das proteínas plasmáticas totais (THOMAS, 2000).

Em cães e roedores infectados por *T. evansi* foram observadas alterações bioquímicas como hiperproteinemia, aumento significativo das atividades séricas da alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), creatinina, e uma redução na relação albumina-globulina (AQUINO et al., 2002; BOYD et al., 1980). Em coelhos, esplenomegalia é comum em animais infectados pelo *T. evansi*, sendo ainda reportadas por Uche e Jones (1992) alterações histológicas no fígado, pulmão, rim, baço e coração, como, infiltração celular, degeneração gordurosa no fígado, glomerulite, edema pulmonar e necrose do miocárdio, sendo estas possíveis alterações responsáveis pelas alterações hematológicas e bioquímicas.

Uche et al. (1992) relataram que os anticorpos têm propriedades que podem destruir o *T. evansi* em coelhos infectados, sendo em seu experimento observado que as imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) ocasionaram em coelhos resistência ao protozoário. Este estudo teve a finalidade de avaliar as alterações bioquímicas em coelhos infectados experimentalmente pelo *T. evansi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados seis coelhos, Nova Zelândia Branco, machos com dois meses de idade e pesando 500g no início do experimento. Estes foram divididos em dois grupos iguais, sendo os roedores do grupo A, coelhos sadios utilizados como grupo controle e os animais do grupo B foram inoculados experimentalmente com 0,5 ml de sangue pela via intraperitonal em uma concentração de 10^6 tripomastigotas no dia 1. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, alimentados com ração comercial e tratados com antiparasitários 15 dias antes de iniciar o experimento. Estes foram mantidos em temperatura e umidade ambiente que oscilou entre 15° e 33°C. A cepa do *T. evansi* foi proveniente de cães infectados naturalmente no município de Uruguaiana, RS (COLPO et al., 2005), sendo mantida em laboratório sob cultura viva em ratos Wistar.

O controle da parasitemia foi realizado através de esfregaços sanguíneos diários, coletados da orelha de cada animal. Após a desinfecção da região auricular com algodão embebido em álcool iodado, foi feita a perfuração da pele com agulha hipodérmica estéril, de onde coletou-se uma gota de sangue sobre lâmina de vidro para a realização do esfregaço sanguíneo. Após a secagem, este foi corado com Panóptico Rápido® e levado ao microscópio de luz para avaliar a presença dos protozoários na circulação em aumento de 1000 vezes.

As amostras de sangue para os testes bioquímicos foram colhidas por punção cardíaca, com a utilização de seringas de 5 ml e agulhas 25x7, armazenadas em um tubo sem

anticoagulante para bioquímica. Após a colheita, as amostras sem anticoagulante foram centrifugadas por 10 minutos, sendo o soro, separado e armazenado sob congelamento a -20°C até o momento da execução das análises. Foram feitas cinco coletas entre um período de 120 dias, sendo estas realizadas nos seguintes dias: 1, 20, 40, 60 e 120.

Foram realizadas dosagens bioquímicas de alanina aminotransferase (ALT), creatinina, uréia, proteína total, albumina e globulinas. Para as dosagens bioquímicas, foi utilizado o analisador semi-automático BioPlus (Bio-200) e kits comerciais. A concentração de proteína plasmática total (PPT) foi determinada por refratometria. A interpretação dos resultados foi realizada segundo Feldman et al. (2000), Lopes e Cunha (2002) e Bush (2004).

A análise estatística dos dados foi feita através da análise de variância (ANOVA), seguida da aplicação do teste de TUKEY para comparação entre as médias, calculando-se o coeficiente de variação para verificar a precisão dos dados (SILVA; AZEVEDO, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os coelhos do grupo B mantiveram uma parasitemia oscilante entre zero e cinco protozoários por campo até 89 dias após inoculação, os quais depois deste período não apresentaram mais o hemoparasita na circulação, isso pode ser explicado por Uche et al. (1992) que relataram a presença de antígenos contra o *T. evansi* em coelhos, adquiridos a partir de uma infecção progressiva pelo protozoário.

Os resultados obtidos para proteínas totais sérica, albumina, globulinas, uréia, creatinina e ALT encontram-se nas Tabelas 1 e 2. No grupo infectado por *T. evansi*, foram observadas hiperproteinemia e hiperglobulinemia. Este aumento na concentração de proteínas pode ter ocorrido devido aumento na concentração de gamaglobulinas, causado pela ação do parasita na circulação sanguínea, levando a estimulação antigênica prolongada, e, conseqüentemente, aumento na concentração sérica da fração gama. Segundo Thomas (2000) infecções crônicas estão associadas com o aumento na concentração das gamaglobulinas, refletindo um aumento na concentração das proteínas plasmáticas totais. Harrus et al. (1995) encontraram em cães infectados por *T. congolense* hiperproteinemia devido à hiperglobulinemia. Sen et al. (1959) não encontraram alterações nos níveis de proteínas totais em coelhos infectados por *T. evansi*.

A concentração de albumina ficou dentro dos parâmetros estabelecidos por Kaneko (1989), mas foi observada diferença entre os grupos, sendo que, no grupo B houve uma diminuição significativa nos níveis séricos da albumina nas amostras do 20° e 40° dias da parasitemia (Tabela 1). Este resultado sugere um comprometimento hepático, levando a uma diminuição da síntese de albumina. Resultados semelhantes ao presente experimento foram reportados por Brandão et al. (2002) em um cão naturalmente infectado por *T. evansi* com parasitemia de 15 a 20 tripomastigotas por campo a 500x de aumento.

Tabela 1. Valores médios das proteínas plasmáticas totais, albumina, globulinas de coelhos infectados experimentalmente por *Trypanosoma evansi*.

Bioquímico	Intervalos da Coleta (dias)	Coelhos	
		Controle	Parasitados
Proteínas Totais (g/dl)	1	6,30 ^a	6,70 ^a
	20	6,70 ^a	8,01 ^a
	40	7,26 ^a	8,40 ^b
	60	6,46 ^a	8,16 ^b
	120	6,96 ^a	8,63 ^b
Albumina (g/dl)	1	3,40 ^a	4,01 ^a
	20	3,74 ^a	3,19 ^b
	40	4,40 ^a	3,20 ^b
	60	3,10 ^a	2,90 ^a
	120	3,11 ^a	3,02 ^a
Globulinas (g/dl)	1	3,40 ^a	4,01 ^a
	20	3,15 ^a	5,72 ^b
	40	4,00 ^a	5,25 ^b
	60	3,98 ^a	5,00 ^b
	120	3,36 ^a	6,26 ^b

Obs: Média seguida por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade do teste de TUKEY.

Tabela 2. Valores médios da uréia, creatinina e ALT de coelhos infectados experimentalmente por *Trypanosoma evansi*.

Bioquímico	Intervalos da Coleta (dias)	Coelhos	
		Controle	Parasitados
Uréia (mg/dL)	1	46,0 ^a	37,0 ^a
	20	47,3 ^a	49,6 ^a
	40	38,6 ^a	53,0 ^b
	60	41,3 ^a	68,6 ^b
	120	50,0 ^a	80,3 ^b
Creatinina (mg/dL)	1	1,4 ^a	1,3 ^a
	20	1,5 ^a	1,4 ^a
	40	0,9 ^a	1,3 ^a
	60	1,0 ^a	1,2 ^a
	120	1,2 ^a	1,5 ^a
ALT (U/l)	1	48,6 ^a	44,6 ^a
	20	64,6 ^a	25,6 ^b
	40	47,0 ^a	22,6 ^b
	60	58,0 ^a	27,6 ^b
	120	60,0 ^a	23,6 ^b

Obs: Média seguida por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade do teste de TUKEY.

Resultados diferentes, ao deste trabalho, foram relatados por Oliveira et al. (1990) que não encontraram alterações significativas nos níveis de proteínas plasmáticas totais, albumina e globulinas em cobaias, entretanto houve diminuição na relação albumina/globulina a partir da segunda semana após a infecção, com aumento da fração alfa e gamaglobulinas, sendo sugerido pelos autores, que houve resposta aos estímulos antigênicos. Monzón e Villavicencio (1990) não encontraram alterações nos níveis séricos de proteínas totais, mas houve diminuição nos níveis de albumina em cobaias e cavalos experimentalmente infectados por *T. evansi*, concordando com os resultados encontrados no presente experimento.

Houve aumento na concentração sérica de uréia aos 40, 60 e 120 dias após a inoculação (Tabela 2). Estes valores permaneceram dentro do intervalo de referência citado por Kaneko (1989), que é de 79 mg/dl. Como não houve variação nos níveis séricos de creatinina pode-se afirmar que este aumento não é de causa renal primária, possivelmente esteja relacionado ao aumento do catabolismo protéico.

Diferentemente deste experimento, Monzón e Villavicencio (1990) observaram, em roedores infectados, níveis estáveis de uréia e diminuição na concentração sérica de creatinina. Segundo Singh (1993) parasitas circulantes induzem a produção de imunoglobulinas que podem depositar-se na camada basal glomerular, levando a redução da taxa de filtração glomerular.

Aquino et al. (2002) e Brandão et al. (2002), analisando cães infectados por *T. evansi* encontraram aumento da atividade sérica da ALT, dados contrários aos encontrados neste trabalho, onde verificou-se uma diminuição significativa da atividade desta enzima, a partir da 2ª coleta até o final do experimento (Tabela 2). Segundo Meyer et al. (1992) necrose da membrana do hepatócito ou hipóxia resulta no aumento dos níveis séricos da ALT e nas doenças hepáticas crônicas, principalmente em estágio terminal, o valor da ALT pode estar normal, diminuídos ou levemente aumentados. Contudo, os animais deste experimento não apresentaram manifestações clínicas de doença hepática, mas associando a diminuição de albumina, pode-se sugerir que houve perda desta função.

Barr (1991) e Arora e Pathak (1995) encontraram aumento da atividade sérica da ALT em cães infectados por *T. evansi* e atribuíram este aumento à lesão hepática. Neste experimento não foi verificado aumento da atividade sérica da ALT em nenhum momento. Possivelmente, este fato, esteja relacionado ao intervalo de coletas que foi muito amplo, uma vez que a vida média desta enzima na circulação é de três dias (DUNCAN et al., 1994).

CONCLUSÃO

Coelhos infectados por *Trypanosoma evansi* apresentam alterações bioquímicas como: aumento na concentração das proteínas séricas totais, causado pelo aumento das globulinas; diminuição da concentração de albumina e ALT; aumento da concentração sérica de uréia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AQUINO, L.P.C.T.; MACHADO, R.Z.; ALESSI, A.C.; SANTANA, A.E.; CASTRO, M.B.; MARQUES, L.C.; MALHEIROS, E.B. Aspectos hematológicos, bioquímicos e anatomopatológicos da infecção de *Trypanosoma evansi* em cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 54, n. 1, p. 8-18, 2002.
- ARORA, J.K.; PATHAK, M.L. Clínico-hematological and biochemical changes associated whit *Trypanosoma evansi* infection dogs. *Indian Journal of Animal Health*, v. 34, p. 33-38, 1995.

- BARR, S.C. American trypanosomiasis in dog. *The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. v. 13, n. 5, p. 745-752, 1991.
- BOYD, R.; MAHMOUD, M.M.; GRAY, A.R. Changes in the levels of some serum enzymes in dromedary camels infected with *T. evansi*. *Research in Veterinary Sciences*, v. 28, n. 3, p. 336-340, 1980.
- BRANDÃO, L.P.; LARSOON, M.H.M.; JÚNIOR, E.H.B.; HAGIWARA, M.K.; VENTURA, R.M.; TEIXEIRA, M.M.G. Infecção Natural pelo *Trypanosoma evansi* em cão – Relato de caso. *Clínica Veterinária*, ano 7, n. 6, p. 23-26, 2002.
- BUSH, B.M. *Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais*. 1 ed. São Paulo: Roca, 2004. 376p.
- COLPO, C.B.; MONTEIRO, S.G.; STAINKI, D.R.; COLPO, T.B.; HENRIQUES, G.B. Infecção Natural por *Trypanosoma evansi* em cão no Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v. 35, n. 3, p. 717-719, 2005.
- DUCAN, J.R.; PRASSE, K.W.; MAHAFFEY, E.A. Liver. In: *Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology*. 3ª ed. Iowa: State University, 1994. cap.7, p.130-151.
- FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C.; SCHALM'S. *Veterinary Hematology*. 5 ed. Wilkins: Lippincott Williams, 2000. 1344p.
- HARRUS, S.; HARMELIN, H.; PRESENTY, B.; BARK, H. *Trypanosoma congolense* infection in two dogs. *Journal of Small Animal Practice*, v. 36, n. 2, p. 83-86, 1995.
- HERBERT, C.N.; INGLIS, M.D. Immunization of mice against *Trypanosoma brucei* infections by administration of released antigens absorbed to erythrocytes. *Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene*, v. 67, p. 268-272, 1973.
- HOLWIL, M.G. Deformation of erythrocytes by trypanosomes. *Experimental Cellular Research*, v. 37, p. 306-311, 1965.
- JAIN, N.C. *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea and Fabinger, 1993. 417p.
- JOSHI, P.P.; SHEGOKAR, V.R.; POWAR, R.M.; HERDER, S.; KATTI, R.; SALKAR, H.R.; DANI, V.S.; BHARGAVA, A.; JANNIN, J.; TRUC, P. Human Trypanosomosis Caused by *Trypanosoma evansi* in India: The First Case Report. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 73, n. 3, p. 491-495, 2005.
- KANEKO, J.J. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4ª ed. San Diego: Academic Press, 1989. 932p.
- LOPES, S.T.A.; CUNHA, C.M.S. *Patologia clínica veterinária*. 1ª ed. Santa Maria: UFSM, 2002. 125p.
- MEYER, D.L.; COLES, E.H.; RICH, L.J. *Veterinary Laboratory Medicine, Interpretation of Diagnosis*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. 350p.
- MONZÓN, C.M. & VILLAVICENCIO, V.I. Serum protins in guinea-pigs and horses infected with *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885). *Veterinary Parasitology*, v.36, n. 3-4, p. 395-301, 1990.
- OLIVEIRA, T.C.G.; SALATA, E.; SOGAYAR, R. Análise eletroforética das proteínas séricas de cobaias experimentalmente com *Trypanosoma evansi*. *Revista de Veterinária e Zootecnia*, v. 2, n. 1, p. 41-45, 1990.
- SEN, H.G.; DUTTA, B.N.; RAY, H.N. Biochemical changes in experimentally induced *Trypanosoma evansi* infection in rabbits and guinea-pigs. *Indian Journal Veterinary Science*, v.29, p.118-123, 1959.
- SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002.
- SILVA, R.A.M.S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* – Biologia Diagnóstico e Controle, EMBRAPA. 2002. 137p. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/Livro015>>, Acesso em: 15 jan. 2005.
- SINGH, B.; KALRA, I.S.; GUPTA, M.P.; NAURIYAL, D.C. *Trypanosoma evansi* infection in dogs: seasonal prevalence and chemotherapy. *Veterinary Parasitology*, v. 50, n. 1-2, p. 137-141, 1993.
- THOMAS, J.S. Overview of plasma proteins. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lippincott, 2000. cap.134, p.891-898.
- UCHE, U.E.; JONES, T.W.; BOID, R. Antibody patterns in rabbits showing different levels of susceptibility to an experimental *Trypanosoma evansi* infection. *Acta Tropica*, v. 52, n. 2-3, p. 139-147, 1992.
- UCHE, U.E.; JONES, T.W. Pathology of experimental *Trypanosoma evansi* infection in rabbits. *Journal of Comparative Pathology*, v. 106, n. 3, p. 299-309, 1992.

Recebido em 28 de agosto de 2006.

Aceito para publicação em 14 de fevereiro de 2007.