

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO DE RUMINANTES NO SEMIÁRIDO: 1.
DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO EM BOVINOS NO SEMIÁRIDO
NORDESTINO 2. TRIPANOSSOMÍASE POR *Trypanosoma vivax* EM OVINOS
DESLANADOS COM LESÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

GLAUCO JOSÉ NOGUEIRA DE GALIZA

PATOS-PB

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO DE RUMINANTES NO SEMIÁRIDO: 1. DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO EM BOVINOS NO SEMIÁRIDO NORDESTINO 2. TRIPANOSSOMÍASE POR *Trypanosoma vivax* EM OVINOS DESLANADOS COM LESÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Mestrando: Glauco José Nogueira de Galiza

Orientador: Prof. Dr. Franklin Riet-Correa

Patos-PB

2011

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA
SETORIAL DO CAMPUS DE PATOS - UFCG

G161d

2011 Galiza, Glauco Jose Nogueira de

Doenças do sistema nervoso de ruminantes no Semiárido: 1. Doenças do sistema nervoso em bovinos no Semiárido nordestino 2. Tripanossomíase por *Trypanosoma vivax* em ovinos deslanados com lesão no sistema nervoso central / Glauco José Nogueira de Galiza.- Patos – PB: UFCG, CSTR. 2011.

54p. + anexo.

Inclui bibliografia

Orientador: Franklin Riet - Correa

Dissertação (Pos - Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde Tecnologia Rural.

1 – Doenças do sistema nervoso – Ruminantes - Dissertação. 2 – Doenças – bovinos. 3 - Doenças - Ovinos. I – Título

CDU: 616.8

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO DE RUMINANTES NO SEMIÁRIDO: 1.
DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO EM BOVINOS NO SEMIÁRIDO
NORDESTINO 2. TRIPANOSSOMÍASE POR *Trypanosoma vivax* EM OVINOS
DESLANADOS COM LESÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Dissertação elaborada por

GLAUCO JOSÉ NOGUEIRADE GALIZA

Aprovada em

Banca examinadora

Prof. Dr. Franklin Riet-Correa
UAMV da UFCG/CSTR-Patos/PB
(Orientador)

Prof. Dr. Pierre Castro Soares
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE-Recife/PE

Prof. Dr. Pedro Isídoro da Nóbrega Neto
UAMV da UFCG/CSTR-Patos/PB

Patos-PB
2011

*“Dedico este trabalho aos meus sobrinhos,
José Pedro e Lauro Filho, por nos ensinarem que
simples atitudes e pequenos gestos podem trazer a
felicidade das pessoas que amamos.”*

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Izabel e Galiza, por tudo que fizeram na minha vida, por sempre lutarem por mim e por meus irmãos, pelo apoio, por todo o amor que me dedicaram e por serem os meus primeiros Mestres.

Aos meus irmãos, Glauce e Glauber, pela confiança, amor e apoio dado nas horas mais difíceis e, principalmente, por serem pessoas admiráveis que contribuíram para realização de mais um sonho que considero nosso.

À minha namorada, Laís Raquel, pelo companheirismo, amor, paciência e por compreender (às vezes) a minha ausência, principalmente nas épocas de festas e datas especiais. Estendo meus agradecimentos à sua família (Dona Neide, Senhor Irismar, Íris e Richard) por tudo o que fizeram por mim, meu muito obrigado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Franklin Riet-Correa, às professoras Dr^a. Sara Vilar Dantas Simões, Dr^a. Rosane Maria da Trindade Medeiros, Dr^a. Verônica Medeiros da Trindade Nobre, aos professores Dr. Pedro Isídoro da Nóbrega Neto e Dr. Eldinê G. Miranda Neto, pela amizade, por compartilhar comigo conhecimentos fundamentais para minha formação profissional e principalmente pelo exemplo de profissionalismo e dedicação.

Aos companheiros do LPA: Luciano, Allan, Fabrício, Rômulo, Diego, Andrei, Clarice, Lizanka, Thalita, Raquel, Luíza, Islaine, Jackson, Temístocles, Tales e professor Gildenor Xavier, por compartilharmos momentos de muito aprendizado e descontração.

Aos funcionários do LPA e HV: Maria das Neves, Edson, Joana, Senhor Cuité, Fiinha, Josemar e Neide, pela amizade, boas risadas e pela ajuda, pois sem vocês não teria conseguido.

Aos amigos de outros setores do HV: Adriana, João Marcos, Ana Lucélia, Maria, Elaine, Gildeni, Tatiane, Beatriz, Evaristo, Rodrigo Palmeira, Diego, Rodrigo e Leonardo por contribuírem de forma direta ou indireta na realização desse trabalho.

Aos amigos de outros laboratórios: Felipe Pierezan, Eduardo Masuda, José Carlos, Ricardo, Priscila, Janduír, Elisa, Juliana Targino, Juliana Brum, Tessie, Camila, Andréa, Tatiane, Monique, Bianca, Paula, Isadora, Welden, Serginho, Pedroso, Paulo Bandarra e Bruno Anjos, pelos ensinamentos e amizade.

Aos professores Dr. Claudio Barros, Dr^a. Glaucia Kommers, Dr. Rafael Figuera e Dr. Francisco Irigoyen, pela oportunidade de acompanhar o trabalho de cada um deles, pela amizade e por estimular ainda mais minha jornada patológica.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFCG, Campus de Patos, pelos conhecimentos que me passaram e, acima de tudo, pela amizade.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Por último, gostaria de agradecer de forma especial a uma pessoa que foi a grande responsável por tudo que aprendi até hoje: Professor Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas. Primeiramente gostaria de agradecer pela oportunidade de participar das atividades do LPA, por me ensinar patologia e principalmente por me ensinar a amá-la. Agradecer pela sua amizade e companheirismo, que julgo as coisas mais importantes que qualquer um pode ter. Gostaria de estender meus agradecimentos à sua família (Saionara, Vitória, Vanessa e Víctor), da qual, para muitos, até faço parte, e demais familiares, pela amizade e por momentos maravilhosos que tive a honra de compartilhar. Creio que as palavras não são suficientes para descrever a relevância do Professor Antônio Flávio na formação de todos nós do LPA, mas posso garantir que ele foi a *Mola-Mestra* que contribuiu para que nos tornássemos aquilo que somos hoje, fazendo parte, assim, da nossa própria história. Mestre muito obrigado!

SUMÁRIO

	Pág.
Lista de figuras	8
Lista de quadros	10
Introdução	11
Capítulo I Doenças do sistema nervoso em bovinos no semiárido nordestino.....	13
Abstract	
Resumo	
Introdução.....	16
Material e Métodos.....	17
Resultados.....	18
Discussão e Conclusões.....	28
Referências.....	32
Capítulo II Tripanossomíase por <i>Trypanosoma vivax</i> em ovinos deslanados com lesão no sistema nervoso central.....	35
Abstract	
Resumo	
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	39
Resultados.....	41
Discussão e Conclusões.....	46
Referências.....	50
Conclusão	53
Anexos	54
1. Doenças do sistema nervoso em bovinos no semiárido nordestino.....	
2. Trypanosomiasis by <i>Trypanosoma vivax</i> in hair sheep with lesions of the central nervous system.....	
3. Guide for Authors - Veterinary Parasitology.....	

Lista de figuras

		Pág.
Capítulo I	Doenças do sistema nervoso em bovinos no semiárido nordestino	
Figura 1	Distribuição anual dos casos de raiva diagnosticados pelo HV entre os anos de 2001 e 2008.....	20
Figura 2	Tuberculose. Bovino 7. A) Observa-se postura de cão sentado. B e C) As leptomeninges apresentam-se difusamente espessadas, firmes e com aspecto granular. D) Medula com lesões esbranquiçadas irregulares afetando a substância branca e cinzenta	24
Figura 3	Bovino com tétano apresentando espasticidade dos quatro membros e opistótono, logo após o nascimento.....	25
Figura 4	Bovinos. Intoxicação por vagens de <i>Prosopis juliflora</i> . (A) Bovinos com desvio da cabeça para manter o alimento na boca (cara torta). B) Bovino com salivação, protrusão da língua e atrofia dos músculos masseteres. C) Músculo masseter de aspecto amarelado em consequência da atrofia por desnervação. D) Tronco encefálico. Observam-se as raízes do nervo trigêmeo com degeneração Walleriana, caracterizada por vacúolos, em cadeia (asteriscos), ocasionalmente contendo restos de axônios ou macrófagos (setas). Obj. 20x. HE.....	26
Capítulo II	Tripanossomíase por <i>Trypanosoma vivax</i> em ovinos deslanados com lesão no sistema nervoso central	
Figura 1	Índice Pluviométrico observado no ano de 2008 e no período de 1996-2007, no município de São João do Rio do Peixe, Paraíba.....	41
Figura 2	Ovino apresentando emagrecimento acentuado, pelos eriçados, hipotricose e crostas na pele.....	43
Figura 3	Ovino apresentando manifestações clínicas neurológicas. (A) Observa-se pressão da cabeça contra obstáculos e queda (B)	

	após serem exercitados.....	43
Figura 4	Esfregaço sanguíneo de ovino contendo numerosos exemplares de <i>T. vivax</i> . Panótico rápido. Obj. 40x.....	44
Figura 5	(A) Coração de ovino apresentando áreas multifocais de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado por entre os feixes de fibras musculares associadas a áreas de fibrose. Obj.10x. (B) Detalhe da lesão anterior. Obj. 40x. HE.....	45
Figura 6	Encéfalo de ovino apresentando acentuado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário ao redor dos vasos e malácia da substancia branca (A), Obj. 10x, e vasculite com até oito camadas de células mononucleares e presença de raras células de Mott (setas) (B). Obj. 40x. HE.....	46

Lista de quadros

	Pág.
Capítulo I Doenças do sistema nervoso em bovinos no semiárido nordestino	
Quadro 1 Diagnósticos realizados em 111 bovinos com sinais clínicos de alterações nervosas, atendidos no Hospital Veterinário do CSTR/UFCG, Patos, PB, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2008.....	18

Introdução

O conhecimento das principais doenças que afetam os animais domésticos, mediante o diagnóstico sistemático, em uma determinada região, é de extrema importância para a vigilância epidemiológica e o controle e/ou erradicação das mesmas.

As doenças do sistema nervoso representam uma parcela importante nas diferentes patologias que acometem os animais de produção na região do semiárido brasileiro. Estudos realizados em pequenos ruminantes, na região do semiárido, demonstraram que aproximadamente 10% de todos os diagnósticos realizados nessas espécies, correspondiam a alterações no sistema nervoso desses animais (Guedes et al., 2007). Em outro estudo no semiárido, as doenças do sistema nervoso foram as principais causas de mortes em equinos (Pimentel et al., 2009).

Esta dissertação, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, é composta de dois capítulos constituídos por artigos científicos originais. O primeiro publicado na revista Pesquisa Veterinária Brasileira (Galiza et al., 2010) e o segundo enviado à *Veterinary Parasitology*, nos quais são descritos estudos realizados com as doenças do sistema nervoso de ruminantes no semiárido.

O primeiro artigo dessa dissertação descreve as doenças do sistema nervoso em bovinos no semiárido nordestino, e o segundo relata um surto de tripanossomíase por *Trypanosoma vivax*, com lesões no sistema nervoso central, em ovinos deslanados.

Referências

- Guedes K.M.R., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Simões S.V.D., Neto E.G.M., Nobre V.M.T. & Riet-Correa F. 2007. Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. *Pesq. Vet. Bras.* 27(1):29-38.
- Pimentel L.A., Oliveira D.M., Galiza G.J.N., Rego R.O., Dantas A.F.M. & Riet-Correa F. 2009. Doenças do sistema nervoso central de eqüídeos no semi-árido. *Pesq. Vet. Bras.* 29(7):589-597.
- Galiza G.J.N., Silva M.L.C.R., Dantas A.F.M., Simões S.V.D. & Riet-Correa F. 2010. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesq. Vet. Bras.* 30(3):267-276.

CAPÍTULO I

Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino

Trabalho publicado na revista Pesquisa Veterinária Brasileira

Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino

GLAUCO J.N. GALIZA, MARIA L.C.R. SILVA, ANTÔNIO F.M. DANTAS, SARA V.D.
SIMÕES e FRANKLIN RIET-CORREA

Autor para correspondência: Franklin Riet-Correa, Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Universitária, S/N, Bairro Santa Cecília, Patos-PB, 58708-110. Email: franklin.riet@pq.cnpq.br

Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino

Glauco J.N. Galiza¹, Maria L.C.R. Silva¹, Antônio F.M. Dantas¹, Sara V.D. Simões¹ e Franklin Riet-Correa^{1*}

ABSTRACT.- Galiza G.J.N., Silva M.L.C.R., Dantas A.F.M., Simões S.V.D. & Riet-Correa F. 2010. [Diseases of the nervous system of cattle in the semiarid of Northeastern Brazil]. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30(3):267-276. Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Patos, PB 58700-000, Brazil. E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

Diseases of the nervous system of cattle in the semiarid region of northeastern Brazil were evaluated by a retrospective study of 411 cattle necropsies performed in the Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande, Patos, Paraíba, between January 2000 and December 2008. Of the 411 cases analyzed, 139 (33.81%) were from cattle that presented nervous signs and the records were reviewed to determine the epidemiological, clinical, and macroscopic and histologic main features. Diagnosis was inconclusive in 28 cases (20.14%). In the cases with diagnosis the main diseases were rabies (48.7% of the cases with nervous signs), brain abscess (7.2%) including three cases of pituitary abscesses, malignant catarrh fever (6.3%), botulism (6.3%), congenital malformations (4.5%), traumatism (4.5%), tuberculosis (2.7%), tetanus (2.7%), BoHV-5 (2.7%), non-suppurative encephalomyelitis (2.7%), intoxication by *Prosopis juliflora* (2.7%), congenital *status spongiosus* of unknown etiology (1.8%), and polioencephalomalacia (1.8%). Other diseases diagnosed only once (0.9%) were criptococosis, listeriosis, thromboembolic encephalitis, lymphosarcoma, tripanossomiasis, and babesiosis by *Babesia bovis*.

INDEX TERMS: Diseases of cattle, botulism, brain abscess, malignant catarrh fever, pituitary abscess, polioencephalomalacia, rabies, tuberculosis.

RESUMO.- Para determinar as doenças que ocorrem no sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino, foi realizado um estudo retrospectivo em 411 necropsias de bovinos realizadas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Patos,

¹ Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), UFCG, Campus de Patos, 58700-000 Patos, PB. *Autor para correspondência: franklin.riet@pq.cnpq.br

Paraíba entre janeiro de 2000 e dezembro de 2008. Dos 411 casos analisados, 139 (33,81%) apresentaram alterações clínicas do sistema nervoso e as fichas foram revisadas para determinar os principais achados referentes à epidemiologia, sinais clínicos e alterações macroscópicas e microscópicas. Em 28 (20,14%) casos, o diagnóstico foi inconclusivo. As principais enfermidades foram raiva (48,7% dos casos com sinais nervosos), abscessos cerebrais (7,2%) incluindo três casos de abscesso da pituitária, febre catarral maligna (6,3%), botulismo (6,3%), alterações congênitas (4,5%), traumatismo (4,5%), tuberculose (2,7%), tétano (2,7%), infecção por herpesvírus bovino-5 (2,7%), encefalomielite não supurativa (2,7%), intoxicação por *Prosopis juliflora* (2,7%), *status spongiosus* congênito de causa desconhecida (1,8%) e polioencefalomalacia (1,8%). Outras doenças diagnosticadas numa única oportunidade (0,9%) foram criptococose, listeriose, encefalite tromboembólica, linfossarcoma, tripanossomíase e babesiose por *Babesia bovis*.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de bovinos, botulismo, abscesso cerebral, febre catarral maligna, abscesso da pituitária, polioencefalomalacia, raiva, tuberculose.

INTRODUÇÃO

Os distúrbios do sistema nervoso (SN) em bovinos abrangem um grupo de enfermidades responsáveis por importantes perdas econômicas em todo o mundo. De 1986 a 1995, o botulismo causou a morte de mais de 6 milhões de bovinos adultos no Brasil (Dutra 2001). A raiva é uma virose importante para pecuária e para a saúde pública no Brasil. Estima-se que as perdas anuais de bovinos por raiva sejam de aproximadamente 850.000 cabeças, que equivalem aproximadamente a 17 milhões de dólares (Lima et al. 2005).

A importância do estudo das enfermidades do SN aumentou desde o aparecimento da encefalopatia espongiiforme dos bovinos (BSE), em meados da década de 1980 (Wells et al. 1987). Sua importância política, econômica, social e de saúde pública foi realçada com o surgimento de uma nova variante da doença humana Creutzfeldt-Jacob (vCJD) relacionada à BSE (Will et al. 1996). Por causa disso, autoridades sanitárias internacionais estão solicitando dos países exportadores de carne, como é o caso do Brasil, que apresentem evidências de que seus rebanhos são livres de BSE. Isso equivale a dizer que os países devem estar capacitados a identificar as outras doenças que afetam o sistema nervoso central de bovinos, mesmo na ausência de casos de BSE (Sanches et al. 2000).

O Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande (HV-CSTR-UFCG) vem realizando diagnósticos sistemáticos

das doenças dos animais na sua área de influência que abrange, principalmente, o semiárido da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte. O objetivo desse trabalho é determinar as principais doenças do SN de bovinos diagnosticadas no Laboratório de Patologia Animal da UFCG no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2008.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram revisadas todas as fichas de necropsias de bovinos diagnosticados com alterações nervosas no Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Paraíba, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2008. Avaliaram-se os dados epidemiológicos (raça, sexo, idade, procedência e época de ocorrência da doença), sinais clínicos, curso clínico e alterações macroscópicas e microscópicas descritas nas fichas de necropsias. Depois da análise das fichas foram identificadas e revisadas as lesões histológicas de todos os casos. Cada diagnóstico equivale à ocorrência de doença em uma propriedade, podendo se referir tanto a um único animal acometido quanto a surtos. Os materiais provenientes de necropsias foram fixados em formol a 10%, e em seguida encaminhados para diafinização e embebição em parafina, sendo depois cortados em seções de 5µm e corados com hematoxilina e eosina. Utilizaram-se também colorações especiais como a de Gomori e o Ácido Periódico de Schiff (PAS) para visualização de agentes fúngicos. Em dois casos de tuberculose utilizou-se a coloração de Ziehl-Neelsen e foram enviados fragmentos de encéfalo e medula espinhal para o Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e submetidos ao teste de imunohistoquímica com anticorpo policlonal anti-*Mycobacterium* spp. na diluição de 1:2000. Diaminobenzidina²(DAB) foi o cromógeno utilizado. Nos casos suspeitos de raiva foram realizados imunofluorescência e inoculação intracranial em camundongos para confirmar o diagnóstico. Em um caso suspeito de raiva, foi realizado exame de imunohistoquímica utilizando anticorpo policlonal antiribonucleoproteína (rabies polyclonal DFA reagent³) na diluição de 1:1000, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

² SIGMA, D 5637. Sigma-Aldrich, 3050 Spruce Street, St Louis, MO 63103, USA, [HTTP://www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

³ Chemicon © International, catalog number 5199, 28820 Single Oak Drive, Temecula, California 92590, USA, www.chemicon.com

RESULTADOS

No período estudado foram examinadas 411 fichas de bovinos necropsiados. Em 139 (33,81%) havia histórico de alterações clínicas no SN e em 111, foi realizado o diagnóstico (Quadro 1). Em 23 casos (16,54% de 139), não foram observadas alterações que justificassem os sinais clínicos, e em 5 casos (3,59% de 139), o material analisado encontrava-se impróprio para o exame histológico.

Quadro 1. Diagnósticos realizados em 111 bovinos com sinais clínicos de alterações nervosas, atendidos no Hospital Veterinário do CSTR/UFCG, Patos, PB, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2008

Diagnósticos	Números de casos/surtos	%
Raiva	54	48,7
Abscessos no sistema nervoso	8	7,2
FCM	7	6,3
Botulismo	7	6,3
Traumatismos	5	4,5
Alterações congênitas	5	4,5
Encefalite e mielite não supurativa	3	2,7
Intoxicação por <i>Prosopis juliflora</i>	3	2,7
Tuberculose	3	2,7
Encefalite por Herpesvírus bovino tipo 5 ^a	3	2,7
Tétano	3	2,7
<i>Status spongiosus</i>	2	1,8
Polioencefalomalacia	2	1,8
Criptococose	1	0,9
Listeriose	1	0,9
Encefalite embólica bacteriana	1	0,9
Neoplasia	1	0,9
Tripanossomíase	1	0,9
Babesiose	1	0,9
Total	111	100

^a Diagnóstico baseado na lesão histológica

Doenças víricas

Sessenta e quatro casos foram associados a doenças atribuídas a vírus, sendo 54 de raiva. Vinte e quatro desses foram descritos por Lima et al. (2005). Dos 30 casos restantes, 24 foram positivos para a IFD e IIC e na histologia apresentaram meningoencefalite linfoplasmocitária e corpúsculos de inclusão. Dois casos positivos para IFD e IIC apresentaram meningoencefalite linfoplasmocitária, sem corpúsculos de inclusão. Três casos em que não foi feita histologia, foram positivos na IFD e IIC. O caso restante que apresentava meningoencefalite linfoplasmocitária, com ausência de corpúsculos de inclusão, no qual não foi feita IFD e IIC, foi positivo para raiva na imuno-histoquímica. Os achados histopatológicos caracterizavam-se pela presença de infiltrado inflamatório mononuclear, predominantemente constituído por linfócitos, plasmócitos e alguns macrófagos, formando manguitos perivasculares. Nas leptomeninges também havia infiltrado inflamatório mononuclear. Os corpúsculos de inclusão foram mais frequentes no cerebelo, ponte e no tubérculo quadrigêmeo anterior. Os principais sinais clínicos eram incoordenação e paralisia dos membros pélvicos evoluindo para os torácicos, decúbito esternal e lateral, salivação, perda da sensibilidade, paralisia da cauda, diminuição do reflexo anal, trismo mandibular, cegueira, opistótono, movimentos de pedalagem e dilatação das pupilas. A evolução clínica variou de dois a oito dias. A Fig. 1 mostra a distribuição dos casos de raiva em cada ano.

Foram diagnosticados sete casos de febre catarral maligna (FCM). A alteração histopatológica característica observada no SNC era uma vasculite, composta de infiltrado inflamatório mononuclear e degeneração hialina das paredes dos vasos. Havia vasculite nos demais órgãos juntamente com a presença de úlceras na cavidade oral, língua e esôfago, que contribuíram para confirmar o diagnóstico. Em três casos, foi relatado que os bovinos pastavam junto com ovinos. Os principais sinais clínicos descritos foram: congestão bilateral de conjuntivas, salivação, opacidade de córnea, cegueira e lacrimejamento bilateral, febre, secreção nasal catarral, úlceras na cavidade oral e narinas, torneio e anorexia. Cinco casos foram descritos por Macedo et al. (2007).

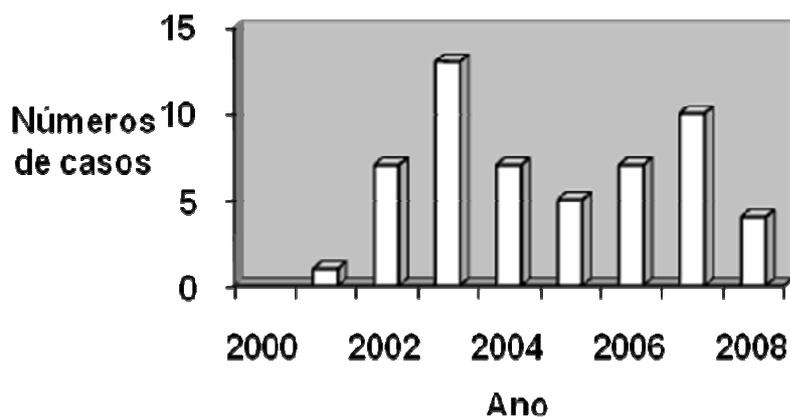


Fig.1. Distribuição anual dos casos de raiva diagnosticados pelo HV entre os anos de 2001 e 2008.

Três casos foram diagnosticados como meningoencefalite não supurativa associada à malácia. Nesses casos a idade dos bovinos variaram de 18 a 24 meses com evolução clínica entre quatro a nove dias. Os sinais clínicos caracterizavam-se por cegueira, pressão da cabeça contra objetos, andar em círculos, incoordenação, trismo mandibular, paralisia de língua, arrastar de pinças e diminuição da sensibilidade da face. Macroscopicamente no encéfalo, foram observadas cavitações com conteúdo gelatinoso e amarelado no córtex frontal e córtex temporal. Um caso apresentava lesões semelhantes, simétricas, no núcleo caudato e nos girus do parahipocampo. Em um caso observou-se também hemorragia na região ventral do tronco encefálico, cerebelo e porção inicial da medula espinhal. Histologicamente verificaram-se áreas multifocais de malácia com microcavitações e numerosas células *gitter*, neurônios vermelhos, neurôniofagia e gliose associadas à vacuolizações da neurópila, edema e hemorragia adjacente. Havia manguitos perivasculares mononucleares, infiltrado de linfócitos e plasmócitos na neurópila e nas leptomeninges e vasculite e tumefação endotelial, principalmente no córtex frontal e núcleo caudato. Lesões de meningoencefalite, mais discretas que no córtex, foram observadas, também, no tronco encefálico. Com base nas lesões histológicas, foi realizado diagnóstico de infecção por herpesvírus bovino tipo 5.

Doenças causadas por fungos

Foi diagnosticado um caso de criptococose em um bovino macho de cinco anos de idade da raça Pardo-Suíço, que apresentava inapetência, depressão, pressão da cabeça contra obstáculos, torção, dismetria, ataxia, evoluindo para decúbito lateral movimentos de pedalagem, nistagmo e ausência do reflexo anal e de flexão dos membros. Na necropsia encontrou-se uma camada de fibrina envolvendo a medula oblonga e os ventrículos laterais,

além de engrossamento da meninge na base do crânio. No encéfalo foi observada acentuada assimetria com aumento de volume do lado esquerdo e cavidades císticas com material translúcido e gelatinoso. Havia múltiplas cavitações nos núcleos da base e duas lesões simétricas afetando o córtex frontal, lóbulo piriforme, córtex occipital, parietal, lobo do hipocampo e parte inferior do córtex temporal. Havia hidrocefalia e assimetria nos ventrículos laterais. Na histopatologia observou-se meningoencefalite granulomatosa, multifocal com áreas císticas contendo leveduras com aspecto de bolhas de sabão. As leveduras foram melhor observadas nas colorações de Gomori e PAS. O agente foi identificado por imunohistoquímica como *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*.

Doenças bacterianas

As doenças atribuídas a agentes bacterianos somaram vinte e três casos. Oito casos de abscessos no SN foram diagnosticados, incluindo três casos de abscesso da pituitária que ocorreram em animais jovens com idade de 30 dias (Bovino 1), três meses (Bovino 2) e seis meses (Bovino 3). No Bovino 1 os sinais clínicos foram edema na região do chanfro e decúbito lateral. O Bovino 2 apresentou apatia, incoordenação, diminuição dos reflexos, pressão da cabeça contra obstáculos, protrusão do olho esquerdo, arqueamento do dorso, andar em círculos, hipersensibilidade, hiperalgesia, decúbito lateral, salivação e movimentos de pedalagem. No Bovino 3 observou-se dispnéia, anorexia, salivação espumosa, retração do globo ocular, diminuição da acuidade visual, dismetria, tremores musculares, decúbito lateral, nistagmo, estrabismo ventro-medial e flacidez de mandíbula. Na necropsia dos três casos observou-se exsudato purulento na superfície das leptomeninges estendendo-se do tálamo até porção final do tronco encefálico e cerebelo e aumento de volume da região da hipófise de consistência flutuante. O Bovino 2 apresentava também dilatação dos ventrículos e herniação do cerebelo. Histologicamente no abscesso havia infiltrado inflamatório neutrofílico e restos celulares envolvido por tecido conjuntivo, e infiltrado inflamatório neutrofílico com deposição de fibrina nas leptomeninges. Nos Bovinos 1 e 3, os abscessos eram laterais à hipófise e no Bovino 2 o abscesso estava localizado no centro da hipófise. No Bovino 3, o animal tinha sido submetido ao uso de tabuleta de desmame e no Bovino 1 observou-se uma lesão penetrante no focinho. No Bovino 2 não foi relatado histórico de desmame por tabuleta, não se observando nenhuma lesão nas narinas.

Dois casos de retículo pericardite traumática (RPCT) com abscessos no SN, foram observados em um animal com 11 meses de idade (Bovino 4) e outro com oito anos de idade (Bovino 5). O Bovino 4 apresentou apatia, debilidade muscular e decúbito lateral. O Bovino 5

não apresentou alterações neurológicas. Macroscopicamente nos dois animais observou-se presença de corpo estranho (arame) na parede do coração e microabscessos nas meninges, tálamo e substância branca sub-cortical. Histologicamente, em ambos os casos de RPCT, as lesões do SN caracterizavam-se por áreas multifocais de abscessos com necrose central e colônias bacterianas levemente basofílicas, circundadas por infiltrado inflamatório neutrofílico envolvido por tecido conjuntivo.

Abscesso no SN foi observado também num caso de retículo peritonite traumática (RPT). O animal apresentou anorexia andar em círculos, pressão da cabeça contra obstáculos, decúbito esternal, depressão, nistagmo, estrabismo, diminuição do reflexo corneal e relaxamento de mandíbula. Macroscopicamente observou-se a presença de arame na parede do retículo. O encéfalo apresentava amolecimento bilateral dos hemisférios, dilatação dos ventrículos laterais e presença de abscesso no núcleo da base, plexo coróide e tálamo. Histologicamente observou-se vasculite e infiltrado inflamatório mononuclear no tronco encefálico. Na medula havia meningite com infiltrado inflamatório mono e polimorfonuclear. Na neurópila observaram-se extensas áreas de infiltrado inflamatório misto e necrose.

Um caso de abscesso cerebelar foi observado em um animal que apresentou dismetria, extensão da cabeça e hiperexcitabilidade. Macroscopicamente o cerebelo apresentou área focal de 3 cm de diâmetro com material caseoso envolvido por uma cápsula. Histologicamente observaram-se áreas de necrose com infiltrado neutrofílico e histioplasmocitário e proliferação de tecido fibroso.

Em um caso de compressão medular o animal apresentou paraplegia e decúbito permanente. Macroscopicamente observou-se um abscesso, de 1,5 cm de diâmetro, comprimindo a medula entre a oitava (T8) e nona (T9) vértebra torácica com exostose da T8.

Sete surtos de botulismo foram diagnosticados. Os sinais clínicos foram: decúbito esternal permanente, ausência do reflexo anal, paralisia flácida dos membros e cauda, salivação, relaxamento de mandíbula e facilidade na exposição da língua. O diagnóstico foi realizado com base nos sinais clínicos, epidemiologia e ausência de lesões no SN. Quatro casos de botulismo estavam associados ao consumo de cama de frango e três à ingestão de água contaminada. Nos casos de botulismo associados ao consumo de cama de frango a mortalidade variou de 10,8 a 33%, enquanto nos casos de botulismo hídrico a mortalidade variou de 7,5 a 37,5%.

Tuberculose foi diagnosticada em três casos: um em bovino adulto da raça Sindhi (Bovino 6); outro em um bovino de um ano e três meses da raça Pardo-Suíço (Bovino 7); e um outro em um mestiço de Holandês de nove anos (Bovino 8). Os sinais clínicos do Bovino

6 caracterizavam-se por tosse, perda de peso progressiva, anorexia e aumento de tamanho dos linfonodos. Reagiu positivo a tuberculinização. O Bovino 7 apresentava incoordenação, debilidade e diminuição da sensibilidade dos membros pélvicos, postura de cão sentado (Fig. 2A) e incontinência urinária. Esse animal reagiu negativamente à tuberculinização. O líquido cefaloraquidiano apresentava numerosos linfócitos. O Bovino 8 era positivo para brucelose e foi eutanasiado sem apresentar alterações clínicas aparentes. Macroscopicamente nos Bovinos 6 e 8 as leptomeninges estavam difusamente espessadas e firmes (Fig. 2B e C). No Bovino 7 havia, no interior dos ventrículos laterais, projeções que ao corte evidenciavam mineralização; na medula, além de lesões nas meninges semelhantes às descritas anteriormente, observavam-se áreas esbranquiçadas irregulares de até 0,5 cm de diâmetro afetando a substância branca e cinzenta da medula (Fig. 2D). Os pulmões dos Bovinos 6 e 7 apresentavam múltiplos nódulos amarelados irregulares e caseosos ao corte. Os linfonodos estavam aumentados e a superfície de corte amarelada e caseosa. No Bovino 6, o rim esquerdo continha múltiplos nódulos caseosos na superfície subcapsular que adentrava a superfície de corte. Histologicamente os Bovinos 6 e 8 apresentavam meningite granulomatosa difusa acentuada e o Bovino 7, meningite e encefalomielite granulomatosa difusa acentuada, caracterizadas por áreas de necrose central com mineralização, circundadas por infiltrado inflamatório constituído por macrófagos epitelioides, células gigantes tipo Langhans, linfócitos e plasmócitos envolvidos por tecido fibroso. No pulmão, linfonodos e rim, havia granulomas multifocais típicos de tuberculose. Foram observados bacilos álcool-ácido resistentes em células gigantes tipo Langhans e macrófagos epitelioides. Os Bovinos 6 e 7, nos que foi realizado imuno-histoquímica, apresentaram marcação positiva para *Mycobacterium* spp.

Três casos de tétano foram diagnosticados. Um em bezerro de trinta dias de idade que apresentou espasticidade muscular e trismo mandibular. Nos dois outros casos os bezerros apresentaram logo após o nascimento espasticidade dos quatro membros e opistótono (Fig. 3). Nas necropsias e nos exames histopatológicos não foram observadas alterações significativas.

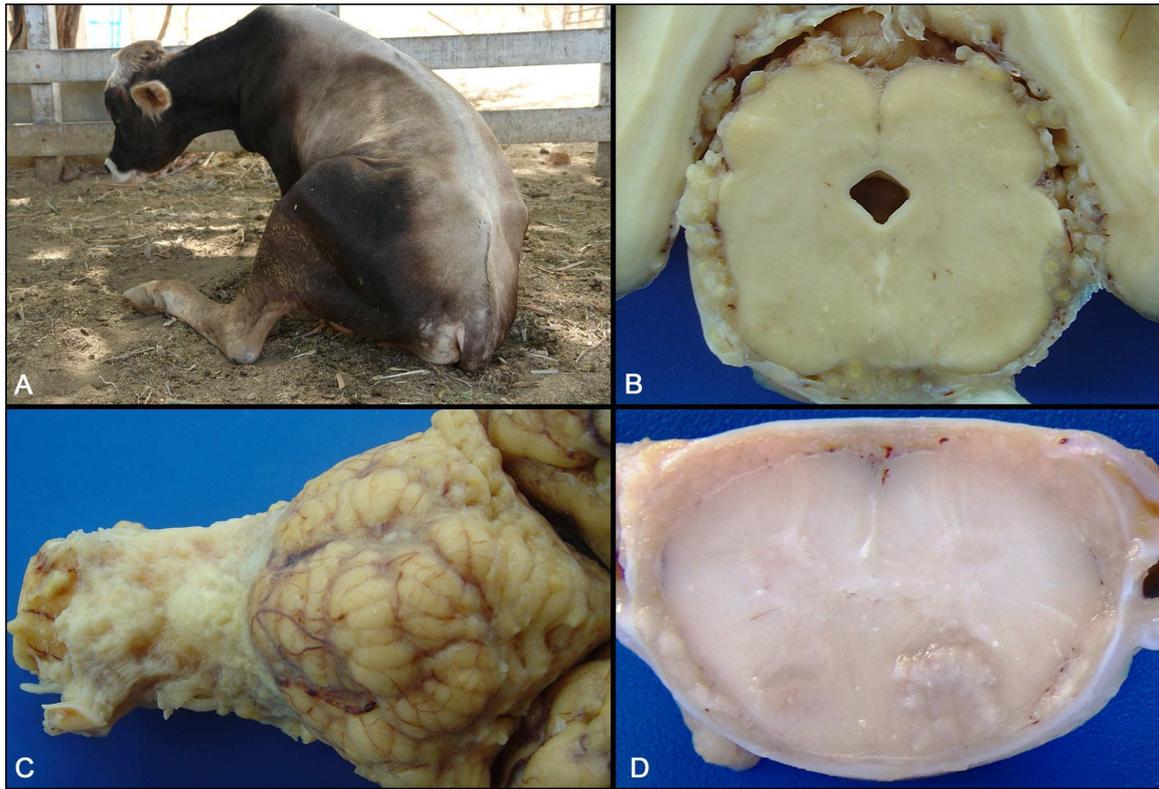


Fig.2. Tuberculose. Bovino 7. A) Observa-se postura de cão sentado. B e C) As leptomeninges apresentam-se difusamente espessadas, firmes e com aspecto granular. D) Medula com lesões esbranquiçadas irregulares afetando a substância branca e cinzenta.

Um caso de encefalite tromboembólica bacteriana foi diagnosticado em um animal de dois anos de idade. Os sinais clínicos observados foram de irritação, andar cambaleante, evoluindo para paralisia dos membros posteriores e anteriores com prostração. A evolução da doença foi de quatro dias. Microscopicamente foram observadas áreas multifocais de malácia com colônias bacterianas basofílicas e infiltrado inflamatório de polimorfonucleares na neurópila e na luz de vasos da substância cinzenta e branca do córtex cerebral e na camada granular do cerebelo. Nas leptomeninges do cerebelo observou-se a formação de trombos nos vasos.

Lesões características de listeriose foram observadas em um bovino de cinco anos de idade. Os sinais clínicos observados foram anorexia, andar cambaleante, cabeça voltada para o flanco, decúbito esternal, nistagmo, estrabismo, paralisia da língua, reflexo anal diminuído e paralisia da cauda. Microscopicamente observaram-se manguitos perivasculares de células mono e polimorfonucleares, microabscessos no bulbo e infiltrado inflamatório misto nas leptomeninges do córtex occipital e cerebelo.



Fig.3. Bovino com tétano apresentando espasticidade dos quatro membros e opistótono, logo após o nascimento.

Doenças tóxicas

Foram observados três casos de intoxicação por *Prosopis juliflora* (algaroba). Os animais tinham oito, três e dois anos de idade e apresentaram desvio lateral da cabeça durante a mastigação (Fig. 4A), magreza acentuada, flacidez de mandíbula, salivação, protusão da língua (Fig. 4B), dificuldade em apreender os alimentos e atrofia do músculo masseter. Na necropsia os músculos da mastigação (masseter, temporal, bucinador e pterigóide medial) estavam atrofiados e com uma coloração amarelada (Fig. 4C). Na histologia observaram-se lesões nos núcleos motor do nervo trigêmio, dos nervos facial, hipoglosso e oculomotor caracterizadas por discreta vacuolização do pericário, com deslocamento de núcleo sem definição da cromatina, neurônios fantasmas, esferóides axonais e degeneração Walleriana nas raízes de nervos cranianos (Fig. 4D). As fibras musculares apresentavam-se delgadas com formato triangular, caracterizando uma atrofia por desnervação, com substituição das fibras musculares por tecido fibroso e gordura.

Malformações

Cinco casos de malformações congênitas foram observados, incluindo hidrocefalia, hipoplasia dos hemisférios cerebelares, escoliose, espinha bífida, artrogripose e gêmeos siameses. Dois casos de malformação na coluna vertebral estavam associados à artrogripose, sendo que um apresentava escoliose e o outro caso espinha bífida. No caso da hidrocefalia observou-se ausência do telencéfalo e dilatação do terceiro ventrículo por líquido. Na hipoplasia cerebelar o animal apresentou cegueira, decúbito lateral e opistótono.



Fig.4. Bovinos. Intoxicação por vagens de *Prosopis juliflora*. (A) Bovinos com desvio da cabeça para manter o alimento na boca (cara torta). (B) Bovino com salivação, protrusão da língua e atrofia dos músculos masseteres. (C) Músculo masseter de aspecto amarelado em consequência da atrofia por desnervação. (D) Tronco encefálico. Observam-se as raízes do nervo trigêmeo com degeneração Walleriana, caracterizada por vacúolos, em cadeia (asteriscos), ocasionalmente contendo restos de axônios ou macrófagos (setas). Obj. 20x. HE.

Nesse caso ocorreu hipoplasia dos hemisférios cerebelares, ausência do verme cerebelar e véu medular, dilatação dos ventrículos laterais e terceiro ventrículo, formação incompleta da fossa romboide (assoalho do quarto ventrículo) e dos colículos caudais. Nos gêmeos siameses os animais eram ligados pela região do tórax e apresentavam medula espinhal dupla, cauda bífida, cinco membros, sendo um atrofiado e malformado na região da cartilagem xifóide, órgãos internos duplicados (pulmão, coração, pré-estômagos, abomaso e fígado) e região cervical e cefálica sem alterações.

Doenças traumáticas

Cinco casos foram diagnosticados como sendo decorrentes de traumas. Em quatro casos de traumatismo craniano, dois ocorreram em bezerros com idade de oito dias e cinco meses, os outros dois, em bovinos com 2 e 5 anos de idade. Os animais foram encontrados mortos no curral sem que anteriormente apresentassem nenhuma alteração clínica. Na necropsia foram observadas áreas de hemorragia e coágulo no encéfalo. Em um caso de fraturas de vértebras sacrais, um bovino de seis anos de idade apresentou debilidade dos membros posteriores com emboletamento e secreção purulenta na vulva.

Doenças parasitárias

Dois casos de doenças parasitárias foram diagnosticados, sendo um surto de tripanossomíase e um caso de babesiose por *Babesia bovis*. O surto de tripanossomíase foi descrito por Batista et al. (2007). O caso de babesiose ocorreu, em julho de 2006, em um bovino de 2 anos de idade que apresentou tremores musculares, ataxia, dismetria e mucosas ictéricas. Na necropsia observou-se icterícia generalizada e moderada, fígado marrom alaranjado, discretamente aumentado e vesícula biliar distendida e com hemorragia na parede e petéquias e equimoses no subcutâneo e músculo cardíaco (subepicárdio e subendocárdio). Os rins apresentavam coloração enegrecida e bexiga repleta de urina avermelhada escura. O córtex cerebral apresentava-se difusamente avermelhado. Na microscopia do encéfalo foi observada congestão, edema perivascular e pequenas hemorragias no córtex. Nos esfregaços de cérebro foram observados parasitos dentro dos eritrócitos com as características de *B. bovis*.

Outras doenças

Foram diagnosticados dois casos de polioencefalomalacia. Um caso ocorreu em um bovino de seis meses de idade no mês de outubro (Bovino 9) e o outro, em um bovino de dois meses de idade no mês de julho (Bovino 10). O Bovino 9 apresentou, subitamente, sintomatologia nervosa com diminuição do tônus da língua que, ao ser tracionada, ficava exposta, cegueira, estrabismo, bruxismo, incoordenação, pressão da cabeça contra obstáculos, decúbito lateral e movimentos de pedalagem. Os sinais do Bovino 10 caracterizaram-se por relaxamento de mandíbula, depressão, reflexo palpebral e sensibilidade da face diminuídos, ausência do reflexo de ameaça e decúbito lateral. Na necropsia do Bovino 9 observou-se hemorragia na piamater e áreas de amolecimento no córtex cerebral. O Bovino 10 apresentou amolecimento do córtex com desprendimento entre as substâncias cinzenta e branca. As

lesões histológicas do córtex caracterizavam-se por áreas extensas de necrose com infiltrado de células *gitter*, tumefação endotelial, neurônios vermelhos, astrócitos reativos, esferóides axonais, hemorragia nas leptomeninges e edema com separação da substância cinzenta e branca do encéfalo. Lesões histológicas semelhantes foram observadas também no tálamo, colículo caudal e núcleos da base.

Foram realizados dois diagnósticos de *status spongiosus* do sistema nervoso central. Um surto acometeu dois bezerros da raça Sindhi e foi descrito por Guedes et al. (2006). Outro caso com lesões difusas de *status spongiosus* da substância branca do SNC ocorreu em um bezerro de cinco meses de idade da raça Guzerá. Nesse caso o fígado estava difusamente pálido e apresentando severa vacuolização do citoplasma de hepatócitos.

Três casos de encefalite não supurativa de origem não determinada foram observados. Um animal de um ano de idade (Bovino 11) apresentou emboletamento, decúbito lateral, movimentos de pedalagem, opistótono, paralisia de cauda e ausência dos reflexos corneal, anal e de retirada. Em um animal de dois anos de idade (Bovino 12) observou-se andar cambaleante, dificuldade na apreensão de alimento e decúbito lateral e outro animal de dois anos e meio (Bovino 13) morreu subitamente. Macroscopicamente, nos três casos, não foram observadas alterações. Na microscopia do Bovino 11, foram observados manguitos perivasculares e vasculite no tronco encefálico (tálamo e colículo). No Bovino12, observaram-se manguitos perivasculares no córtex frontal, parietal, tálamo e colículos, infiltrado mononuclear nas leptomeninges do tálamo, hipocampo e cerebelo, e infiltrado mononuclear no gânglio de Gasser. O Bovino13 apresentou discreto infiltrado mononuclear perivascular no tálamo. Em nenhum destes casos foram realizadas técnicas para diagnóstico de raiva.

Um caso de linfossarcoma foi diagnosticado em bezerro de um ano de idade. O animal apresentava debilidade dos membros posteriores que evoluiu para decúbito esternal, com perda dos reflexos de retirada dos membros posteriores. Na necropsia observou-se uma massa de coloração acinzentada, friável e hemorrágica comprimindo a medula entre a terceira e quarta vértebras lombares. Na histopatologia observou-se massa tumoral compacta composta por células de núcleo pequeno arredondado com citoplasma escasso. Na medula observou-se degeneração vacuolar da substância branca

DISCUSSÃO

Neste trabalho 34% dos bovinos necropsiados apresentaram sinais clínicos de alterações neurológicas, o que demonstra a importância das enfermidades do SN como causa de

mortalidade na região. Valores maiores foram observados em um estudo realizado no Mato Grosso do Sul, onde de 996 bovinos 47% apresentaram enfermidades do SNC (Lemos et al. 1998), enquanto que em um estudo realizado no Rio Grande do Sul, as doenças do sistema nervoso corresponderam a 10% das enfermidades diagnosticadas em bovinos (Sanches et al. 2000).

As enfermidades mais frequentes foram raiva, abscessos no SN, febre catarral maligna e botulismo. A frequência da raiva em bovinos na região semiárida é alta, sendo a principal doença do SN (Lima et al. 2005). Em 80% dos casos de raiva foi possível observar a presença de corpúsculos de Negri, número elevado quando comparado a estudos realizados no Rio Grande do Sul, onde em 68% dos casos foi possível a observação dos corpúsculos (Langohr et al. 2003). Nos anos de 2003 e 2007, observou-se maior número de casos, justificado pela ciclicidade da raiva rural que acomete bovinos com periodicidade de até 7 anos (Mori et al. 2004). Aproximadamente 48% dos casos diagnosticados com sintomatologia nervosa foram de raiva, chamando a atenção para a necessidade da vacinação sistemática dos rebanhos nas áreas endêmicas e o controle das populações de morcegos hematófagos (Mori et al. 2004).

Nesse estudo a ocorrência de abscessos no SN se destaca pela sua alta frequência. Em três casos ocorreram lesões do SN secundárias a corpos estranhos no retículo e ou pericárdio, doença frequente no semiárido, associada, ocasionalmente, ao fornecimento de cama de frango que, além de provocar problemas como o botulismo, veicula corpos estranhos perfurantes. O acesso dos animais a lixões também favorece a ocorrência de reticulite traumática. Os casos de abscessos da hipófise também podem estar correlacionados com falhas de manejo no momento do desmame, pois em dois animais, havia relato de uso de “tabuleta” de desmame e lesões perfurantes na região das narinas. Casos semelhantes foram descritos em bezerros no Rio Grande do Sul, que desenvolveram uma doença conhecida como síndrome do abscesso pituitário (Fernandes et al. 2000, Loretto et al. 2003).

A FCM é também uma doença frequente no Nordeste. A frequência da enfermidade foi de 6,3%, número superior aos 3,28% dos diagnósticos realizados em bovinos no Sul do Brasil (Sanches et al. 2000). A diferença na incidência da doença entre o Nordeste e o Rio Grande do Sul pode ser explicada pelo maior contato entre ovinos e bovinos no Nordeste (Macedo et al. 2007). A única medida possível para profilaxia da enfermidade é manter os bovinos separados dos ovinos, o que nem sempre é possível nas condições do semiárido nordestino (Riet-Correa et al. 2003).

Os diagnósticos de botulismo foram realizados com base no quadro clínico e epidemiologia e na ausência de lesões (Dutra et al. 2001, 2005). A principal causa de

botulismo foi à ingestão de cama de frango, diferente do que foi observado por Lemos (2005) que diagnosticou, como principal causa de botulismo, a osteofagia. A intoxicação botulínica é uma importante causa de mortalidade bovina na pecuária extensiva (Dutra et al. 2005). O Ministério da Agricultura do Brasil proíbe a utilização da cama de frango na alimentação de bovinos, entretanto seu uso como alimento tem sido uma prática comum nos períodos de escassez de pastagens (Riet-Correa et al. 2003). A não ocorrência de botulismo associado à osteofagia deve-se, provavelmente, à carência de fósforo, e portanto a osteofagia, no semiárido, é bem menos grave que em outras regiões do Brasil, principalmente as áreas de Cerrado e a região Norte (Riet-Correa 2007a).

Em relação à ocorrência de doenças tóxicas, identificou-se apenas a intoxicação por vagens de *Prosopis juliflora* e, mesmo assim, o número de casos foi pequeno considerando a quantidade da planta presente na região e sua utilização como alimento na época de escassez de forragens. Surtos de intoxicação foram descritos na região na década de 90, trabalhos de pesquisas foram desenvolvidos e práticas racionais de utilização da algaroba foram sugeridas, o que, provavelmente, reduziu a ocorrência de casos. Além disso, o reconhecimento precoce da enfermidade pelos produtores permite que o abate do animal seja realizado a tempo de evitar mortes e perdas econômicas. Recomenda-se que sua utilização na dieta diária não ultrapasse 30% por no máximo 6 meses. Nos animais a campo, esses não devem permanecer mais de 60 dias em áreas com algaroba. Vagens de algaroba também podem ser utilizadas em animais de engorda na fase de terminação (Riet-Correa et al. 2003, Câmara et al. 2009).

A poliencefalomalacia foi diagnosticada em dois casos. A época de ocorrência da enfermidade coincide com a escassez de pastagens e suplementação alimentar, o que sugere alteração na dieta dos animais. Vários fatores podem estar associados ao aparecimento da PEM, alterações no metabolismo da tiamina associada a dietas ricas em concentrado, ingestão de análogos da tiamina, ingestão de vegetais contendo tiaminases, intoxicação por enxofre, chumbo e privação de água e/ou intoxicação por cloreto de sódio (Lemos & Riet-Correa 2007, Nakazato et al. 2000). Três casos de tuberculose com comprometimento do SNC foram diagnosticados. Além de lesões no SNC, pulmão, rim e linfonodos foram afetados também. A tuberculose é uma enfermidade de grande importância para a saúde pública, visto que a presença da doença em rebanhos bovinos traduz risco iminente à saúde humana (Salazar & Guimarães 2006). Lesões de tuberculose no SNC ocorrem em animais que adquirem a infecção pela via congênita (Barros et al. 2006).

Três casos com lesões características de meningoencefalite por BoHV-5 foram diagnosticados em bovinos com idade entre 18 e 24 meses de idade. A evolução clínica e as

lesões macroscópicas e microscópicas são semelhantes às descritas por outros autores (Elias et al. 2004, Rissi et al. 2006, Rissi et al. 2007). A doença pode aparecer em casos esporádicos, como nos casos descritos neste trabalho, ou em forma de surtos que podem afetar até 30% do rebanho. Bovinos jovens de 6-7 meses são mais afetados, mas, esporadicamente, a doença pode afetar bezerros lactantes ou animais adultos maiores de 3 anos de idade (Halfen & Riet-Correa 2007).

Cinco casos de malformações congênitas foram diagnosticados. As malformações congênitas podem estar associadas a defeitos hereditários, agentes teratogênicos, de natureza infecciosa (como vírus), deficiência nutricional e toxinas de plantas (Barros et al. 2006). No semiárido do Nordeste *Mimosa tenuiflora* e provavelmente *Mimosa ophthalmocentra* causam malformações em caprinos, ovinos e bovinos, caracterizadas por flexão de membros torácicos (artrogripose) que também podem estar encurtados ou torcidos, micrognatia, fendas palatinas primárias (lábio leporino) e secundárias (palatosquise) e malformações na coluna vertebral (cifose, escoliose, torcicolo ou hiperlordose). Pode ocorrer o nascimento de animais cegos e com acefalia, bicefalia, hidranencefalia, hipoplasia da língua, meningocele e siringocele (Pimentel et al. 2007, Riet-Correa 2007b, Riet-Correa & Mendes. 2007).

Um caso de encefalite tromboembólica foi diagnosticado. Nesse caso as lesões são semelhantes às produzidas por *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*). Um caso semelhante foi diagnosticado no Mato Grosso do Sul (Lemos 2005). Essa bactéria é um importante patógeno que pode causar doença respiratória, meningoencefalite trombótica, artrite e distúrbios reprodutivos. Scarcelli et al. (2004) isolou pela primeira vez a *H. somnus* no Brasil de abortos em bovinos evidenciando a presença desse agente no Brasil.

Outras doenças foram diagnosticadas com menor frequência, evidenciando que as perdas causadas por essas enfermidades não são significativas, mas devem ser consideradas como diagnósticos diferenciais para as outras enfermidades do SN. Em nenhum dos casos foram observadas lesões que pudessem ser interpretadas como sendo sugestivas de encefalopatia espongiiforme bovina, evidenciando que na região do semiárido nordestino não ocorre a BSE (Wells et al. 1987).

Agradecimentos.- Este trabalho foi financiado pelo Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (Pronex, Proc,001/04, CNPq, FAPESQ, MCT), pelo programa Institutos do Milênio (Proc. CNPq 420012/2005-2) e pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Para o Controle das Intoxicações por Plantas (CNPq, processo 573534/2008-0). O primeiro autor agradece ao CNPq e a CAPES pela concessão de bolsas de iniciação científica e de mestrado

respectivamente. Aos Professores Dr. Claudio S. L. Barros e David Driemeier pela realização da imuno-histoquímica.

REFERÊNCIAS

- Barros C.S.L., Driemeier D., Dutra I.S. & Lemos R.A.A. 2006. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil. Vallée, Montes Claros, MG. p.3-150.
- Batista J.S., Riet-Correa F., Teixeira M.M.G., Madruga C.R., Simões S.V.D. & Maia T.F. 2007. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Vet. Parasit.* 143:174-181.
- Batista J.S., Bezerra F.S., Lira R.A., Carvalho J.R.G., Neto A.M.R., Petri A.A. & Teixeira M.M.G. 2008. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 28(1):63-69.
- Câmara A.C.L., Costa N.A., Riet-Correa F., Afonso J.A.B., Dantas A.F.M., Mendonça C.L. & Souza M.I. 2009. Intoxicação espontânea por vagens de *Prosopis juliflora* (Leg. Mimosoideae) em bovinos em Pernambuco. *Pesq. Vet. Bras.* 29(3):233-240.
- Dutra I.S. 2001. Epidemiologia, quadro clínico e diagnóstico pelo soro neutralização em camundongos do botulismo em bovinos no Brasil, 1989-2000. Tese de Livre-Docência. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Campus de Araçatuba. 133p.
- Dutra I.S., Döbereiner J., Rosa I.V., Souza L.A.A. & Nonato M. 2001. Surtos de botulismo em bovinos no Brasil associados à ingestão de água contaminada. *Pesq. Vet. Bras.* 21(2):43-48.
- Dutra I.S., Döbereiner J. & Sousa A.M. 2005. Botulismo em bovinos de corte e leite alimentados com cama de frango. *Pesq. Vet. Bras.* 25(2):115-119.
- Elias F., Schild A.L. & Riet-Correa F. 2004. Meningoencefalite e encefalomalacia por Herpesvírus bovino-5: distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. *Pesq. Vet. Bras.* 24(3):123-131.
- Fernandes C.G., Riet-Correa F., Schild A. L., Bailardi C. & Stigger A. 2000. Pituitary abscesses in young calves associated with the use of a controlled suckling devise. *J. Vet. Diag. Invest.* 12:70-71.
- Guedes K.M.R., Schild A.L., Riet-Correa F., Barros S.S. & Simões V.D.S. 2006. Degeneração esponjosa no sistema nervoso central de bezerros da raça Sindhi. *Pesq. Vet. Bras.* 26(3):157-160.

- Halfen D.C. & Riet-Correa F. 2007. Infecção por Herpesvírus Bovino-1 e Herpesvírus Bovino-5, p.126-137. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Ed.), Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. Vol.1. 3 ed. Pallotti, Santa Maria, RS. 722p.
- Langohr I.M., Irigoyen L.F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2003. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. *Ciência Rural*. 33(1):125-131.
- Lemos R.A.A., Brum K.B., Bernado K.C., Katayama K.A., Bonilha M.M. & Cavallero J.C.M. 1998. Aspectos epidemiológicos das principais enfermidades caracterizadas por sintomatologia nervosa em bovinos, diagnosticadas no Mato Grosso do Sul. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande. Relatório de Bolsa de iniciação Científica do CNPq. 16p.
- Lemos R.A.A. 2005. Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões Centro-oeste e Sudeste do Brasil. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal. 149p.
- Lemos R.A.A. & Riet-Correa F. 2007. Polioencefalomalacia, p. 658-670. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Ed.), Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. Vol.2. 3 ed. Pallotti, Santa Maria, RS 694p.
- Lima E.F., Riet-Correa F., Castro R.S., Gomes A.B. & Lima F.S. 2005. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervosos e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras*. 25(4):250-264.
- Loretti A., Ilha R.S., Riet-Correa G., Driemeier D., Colodel E.M. & Barros C.S.L. 2003. Síndrome do abscesso pituitário em bezerros associados ao uso de tabuleta nasal de desmame interrompido. *Pesq. Vet. Bras*. 23(1):39-46.
- Macedo J.T.S.A., Riet-Correa F., Simões S.V.D., Dantas A.F.M. & Nobre V.M.T. 2007 Febre catarral maligna em bovinos na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras*. 27(7):277-281.
- Mori A.E., Lemos R.A.A. & Kadri A. 2004. Raiva, p.63-86. In: Lemos R.A.A., Mori A.E., Kadri A. & Katayama K.A. (Ed). Botulismo, meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5, polioencefalomalacia, raiva. Série Qualificação Rural 2, Ed. UFSM, Campo Grande MS, 86p.
- Nakazato L., Lemos R.A.A. & Riet-Correa F. 2000. Polioencefalomalacia em bovinos nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Pesq. Vet. Bras*. 20(3):119-125.
- Pimentel L.A., Riet-Correa F., Gardner D., Panter K.E., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Mota R.A. & Araujo J.A.S. 2007. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the Northeastern Brazilian semiarid rangelands. *Vet. Pathol*. 44:928-931.

- Riet-Correa F., Tabosa I.M., Azevedo E.O., Medeiros R.M.T., Simões S.V. D., Dantas A.F.M., Alves C.J., Nobre V.M.T., Athayde A.C., Gomes A.A. & Lima E.F. 2003. Doença dos ruminantes e eqüídeos no Semi-árido da Paraíba. *Semi-árido em Foco*. 1:4-111.
- Riet-Correa F. 2007a. Suplementação mineral em ruminantes, p.263-280. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R. (Ed.), *Doenças de Ruminantes e Eqüídeos*. Vol.2. 3 ed. Pallotti, Santa Maria, RS. 694p.
- Riet-Correa F. 2007b. Plantas tóxicas e micotoxinas que afetam a reprodução em ruminantes e eqüinos no Brasil. *Biológico*, São Paulo.69(2):63-68.
- Riet-Correa F. & Mendez M.C. 2007. Intoxicação por plantas e micotoxinas, p. 99-221. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Ed), *Doenças de Ruminantes e Eqüídeos*. Vol.2. 3 ed. Pallotti, Santa Maria, RS.694p.
- Rissi D.R., Oliveira F.N., Rech R.R., Pierezan F., Lemos R.A.A. & Barros, C.S.L. 2006. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.* 26(2):123-132.
- Rissi D.R., Rech R.R., Flores E.F., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2007. Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.* 27(7):251-260.
- Salazar F.H.P. & Guimaraes E.B. 2006. Tuberculose bovina, p.59-112. In: Lemos R.A.A. *Brucelose bovina tuberculose bovina*. Série Qualificação Rural 4. Ed. UFMS, Campo Grande, MS, 112p.
- Sanches A.W.D., Langohr I.M., Stigger A.L. & Barros C.S.L. 2000. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 20(3):113-118.
- Scarcelli E., Genovez M.E., Cardos M.V., Campos F.R., Miyashiro S., Piatii R.M., Teixeira S.R., Stefano E., Okuda L.H. & Pituco E.M. 2004. Abortamento e morte embrionária em receptoras bovinas por *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*). *Acta Scientiae Veterinariae*. 32(1):59-64.
- Wells G.A.H., Scotta C., Johnson C.T., Gunning R.F., Hancock R.D., Jeffrey M., Dawson M. & Bradley R. 1987. A novel progressive spongiforme encephalopathy in cattle. *Vet. Rec.* 121:419-420.
- Will R.G., Ironside J.W., Zeidler M., Cousens S.N., Estibeiro K., Alpeovitch A., Poser S., Pocchiari M., Hofman S. & Smith P.G. 1996. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 347:921-925.

CAPÍTULO II

Tripanossomíase por *Trypanosoma vivax* em ovinos deslanados com lesão no sistema nervoso
central

Trabalho enviado a Veterinary Parasitology

Tripanossomiase por *Trypanosoma vivax* em ovinos deslanados com lesão no sistema nervoso central

GLAUCO J.N. GALIZA, ADRIANA C.O. ASSIS, DIEGO M. OLIVEIRA, LUCIANO A. PIMENTEL, ANTÔNIO F.M. DANTAS, SARA V.D. SIMÕES, MARTA M.G. TEIXEIRA
E FRANKLIN RIET-CORREA

Autor para correspondência: Franklin Riet-Correa, Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Universitária, S/N, Bairro Santa Cecília, Patos-PB, 58708-110. Email: franklin.riet@pq.cnpq.br

Tripanossomíase por *Trypanosoma vivax* em ovinos deslançados com lesão no sistema nervoso central⁴

G.J.N. Galiza^a, A.C.O. Assis^a, D.M. Oliveira^a, L.A. Pimentel^a, A.F.M. Dantas^a, S.V.D. Simões^a, M.M.G. Teixeira^b, F. Riet-Correa^{a,*}

^aHospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba 58700-000, Brazil

^bDepartamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo,

Av. Prof. Lineu Prestes 1374, 05508-900 São Paulo, Brazil.

ABSTRACT.- This paper reports an outbreak of trypanosomiasis caused by *Trypanosoma vivax* in sheep on a farm in the state of Paraíba. From a total of 306 sheep, 216 were affected and died. Cattle and buffalo that remained in the same pasture were not affected. Clinical signs were anorexia, lethargy, anemia, rough hair coat, weight loss, submandibular edema, abortion, and in some cases, nervous signs such as head pressing, lateral recumbence, paddling movements and muscle tremor. *T. vivax* was identified by their morphology in blood smears and by polymerase chain reaction (PCR). At necropsy there was watery blood, pale carcass and presence of liquid in the peritoneal cavity and pericardial sac. Non suppurative myocarditis and meningoencephalitis with areas of malacia were observed histologically. The affected animals recovered after treatment with diminazene aceturate. After treatment the parasite was not detected in blood smears or PCR. It is suggested that the parasite was introduced to the farm by carrier buffalo and was transmitted by tabanids, which were abundant during the outbreaks, and probably also by iatrogenic transmission. It is suggested that the Brazilian semiarid region is non-endemic for trypanosomiasis and the disease can occur if the parasite is introduced in the presence vectors.

INDEX TERMS: *Trypanosoma vivax*, sheep, anemia, weight loss, hemoparasites, nervous signs.

⁴ Enviado para publicação em 22 de janeiro de 2011.
Aceito para publicação em
Corresponding author. Fax +55 83 3423 9523
E-mail address: franklin.riet@pq.cnpq.br

RESUMO.- Descreve-se um surto de tripanossomíase causada por *Trypanosoma vivax* em ovinos em uma propriedade no estado da Paraíba. De um total de 306 ovinos, 216 foram afetados e morreram. Bovinos e búfalos que permaneciam na mesma pastagem não foram afetados. Os ovinos afetados apresentavam anorexia, apatia, anemia, pêlos eriçados, perda de peso, edema submandibular, aborto e, em alguns, sinais nervosos como decúbito lateral, movimentos de pedalagem e tremores musculares. Em amostras de sangue de 30 ovinos havia anemia e parasitemia por *T. vivax*, identificado pela sua morfologia e mediante a reação em cadeia da polimerase (PCR). Nas necropsias observou-se sangue aquoso, carcaça pálida e presença de líquido na cavidade peritoneal e saco pericárdico. Histologicamente havia miocardite e meningoencefalite não supurativa com áreas de malácia, que são descritas pela primeira vez em ovinos. Os animais afetados foram tratados com diaceturato de diminazene e os sinais clínicos desapareceram. Após o tratamento não se verificou o parasita nos esfregaços sanguíneos e nem no PCR. Sugere-se que o parasita foi introduzido na fazenda por búfalos portadores e transmitidos por tabanídeos (abundantes na época) e de forma iatrogênica, pelo uso das mesmas agulhas para o tratamento de vários animais. Sugere-se que a região do semiárido é uma área de desequilíbrio enzoótico e a doença pode ocorrer se o parasita for introduzido na presença de vetores.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Trypanosoma vivax*, ovino, anemia, perda de peso, hemoparasito, sinais nervosos.

INTRODUÇÃO

Os tripanossomas são protozoários flagelados que causam uma variedade de doenças em seres humanos e animais (Smith, 2006). Infecções subclínicas por tripanossomas potencialmente patogênicos e infecções por tripanossomas não patogênicos são frequentes (Stephen, 1986). Na África as tripanossomíases estão amplamente distribuídas e são causadas por várias espécies de *Trypanosoma* em áreas ocupadas pelo seu vetor biológico, a mosca tsetse (*Glossina* spp.) (Hoare, 1972; Gardiner et al., 1989).

Na América do Sul duas espécies de *Trypanosoma* têm importância econômica: *T. evansi* que causa a tripanossomíase em cavalos e em outros mamíferos (Rodrigues et al., 2005) e *T. vivax* que causa doença em ruminantes (Silva et al., 1999; Batista et al., 2007, 2009). *T. vivax* adaptou-se à transmissão mecânica por insetos hematófagos, como *Tabanus*

spp. e *Stomoxys* spp., o que determina a sua ocorrência em regiões onde não existe *Glossina* spp. (Anosa, 1983; Otte & Abuabara, 1991).

O primeiro caso de tripanossomíase por *T. vivax* foi registrado na América Latina em bovinos na Guiana Francesa em 1919 (Leger & Vienne, 1919). No Brasil *T. vivax* foi descrito pela primeira vez em búfalos nas proximidades da cidade de Belém, no estado do Pará (Shaw & Lainson, 1972). Silva et al. (1996) identificaram a presença de *T. vivax* em bovinos no Pantanal do Mato Grosso. No Nordeste o primeiro surto de tripanossomíase por *T. vivax* ocorreu no município de Catolé do Rocha, sertão da Paraíba (Batista et al., 2007).

Os principais sinais clínicos da infecção por *T. vivax* são febre, anemia, queda na produção de leite, inapetência, fraqueza progressiva, emaciação, opacidade de córnea, aborto, diarreia, hemorragias (Dávila & Silva, 2000; Batista et al., 2007) e sinais nervosos incluindo incoordenação, tremores musculares e hipermetria (Batista et al., 2007). A infecção por *T. vivax* em pequenos ruminantes é relativamente incomum em condições naturais, mesmo em áreas onde ocorre a presença da mosca tsetse, pois essa raramente se alimenta de ovinos e caprinos (Anosa, 1983; Jordan, 1986).

No Brasil o primeiro relato de tripanossomíase em ovinos e caprinos por *T. vivax*, ocorreu no Nordeste brasileiro, causando anemia, perda de peso e aborto (Batista et al., 2009), porém nesse trabalho não foram observados sinais nervosos e não foram realizadas necropsias dos animais afetados. Objetivou-se com o presente artigo relatar sinais clínicos, incluindo sinais nervosos, epidemiologia e achados hematológicos e patológicos de um surto de tripanossomíase por *T. vivax* em ovinos deslanados da raça Santa Inês.

MATERIAL E MÉTODOS

O surto ocorreu em um rebanho de 306 ovinos no município de São João do Rio do Peixe, no estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. A região é caracterizada por um clima semiárido com temperatura média de 26°C e média anual de pluviosidade variando de 500 a 800mm. As chuvas são irregulares e em alguns anos são poucas ou insignificantes. A estação chuvosa é curta, e ocorre entre os meses de janeiro-fevereiro a abril-maio. A umidade relativa do ar varia de 60% a 75%. A vegetação conhecida como *caatinga*, é exclusivamente do nordeste brasileiro e ocupa aproximadamente 11% do território do país. Essa vegetação é característica da região semiárida (xerófitas) com presença de arbustos com galhos retorcidos e raízes profundas, e cactos e bromélias.

Os dados epidemiológicos foram coletados em cinco visitas à propriedade. Durante essas visitas realizaram-se inspeção das pastagens e do rebanho, exame clínico dos animais e coleta de material para exames laboratoriais. Durante as duas primeiras visitas foram coletadas amostras de sangue, com EDTA, para realização de hemograma, de 26 ovinos com sinais clínicos de anemia e/ou emagrecimento e dois animais sem sinais clínicos e bom estado corporal. No momento da coleta foram realizados 30 esfregaços sanguíneos por punção da veia marginal da orelha de 27 ovinos com sinais clínicos e três animais sem sinais clínicos, que foram corados com panótico rápido para pesquisa de hemoparasitas. Amostras de sangue de dois ovinos saudáveis e 12 ovinos doentes foram coletadas e misturadas com etanol (1,5 ml de sangue e 1,5 ml de etanol) para realização de PCR (reação da cadeia de polimerase) de acordo com metodologia descrita por Ventura et al. (2001). Foi realizada a coleta de fezes de seis ovinos com sinais clínicos para pesquisa de parasitas gastrointestinais. Três ovinos e um feto abortado foram necropsiados. Fragmentos de órgãos das cavidades torácica e abdominal e sistema nervoso central (SNC) foram coletados e fixados em formol tamponado a 10%. Para avaliação do SNC, foram examinados histologicamente secções transversais da medula oblonga, ponte, colículo rostral, tálamo, cápsula interna, córtex, pedúnculos cerebelares e cerebelo. Todos os tecidos foram processados rotineiramente para preparação de blocos de parafina e cortados em secções de 5µm e corados pela hematoxilina e eosina (HE).

Realizou-se o tratamento de 30 ovinos que apresentaram sinais clínicos, com diaceturato de diminazene Ganaseg^{®57%}). Três doses, de 3,5 mg/kg de peso corporal, foram administradas pela via intramuscular a cada animal com intervalo de oito dias entre as administrações. Oito dias após o primeiro tratamento, foram examinados esfregaços sanguíneos da veia marginal da orelha de 11 ovinos tratados para pesquisa de tripanossomas, e amostras de sangue dos mesmos ovinos foram coletadas e examinadas por PCR. Um mês após o final do tratamento, amostras de sangue de 11 ovinos não afetados anteriormente, quatro bovinos e quatro bubalinos foram coletados para realização de exame de PCR. Na mesma data realizaram-se esfregaços sanguíneos da veia marginal da orelha de quatro bovinos e quatro bubalinos. Em agosto de 2009, um ano após o surto, realizou-se uma visita à propriedade para coleta de amostras de sangue em etanol de 62 ovinos de um total de 101, e todos os bovinos (5) e bubalinos (15) para exames de PCR. Amostras de sangue em etanol de

⁵ Diaceturato de diminazene 7,0g; Veículo q.s.p. 100 ml. NOVARTIS ANIMAL HEALTH

29 ovinos, de um rebanho de 126 ovinos de uma propriedade vizinha, foram coletadas para exames de PCR.

RESULTADOS

Epidemiologia

A propriedade onde ocorreu o surto de tripanossomíase tinha aproximadamente 1200 hectares, situada às margens do Rio do Peixe, com pastagem composta de pasto nativo e áreas com *Brachiaria decumbens*. De um total de 306 ovinos deslanados da raça Santa Inês, entre jovens e adultos, morreram 216 (70,58%), no período de abril a julho de 2008. A estação chuvosa nesse ano, especialmente nos meses de março, abril e maio foi mais abundante que a média do período de 1996-2007 na região (Fig. 1). Os ovinos eram criados de forma extensiva e pastejavam juntamente com 14 bovinos e cinco bubalinos e ao final da tarde todos os animais eram recolhidos em um mesmo curral. Apenas os ovinos foram afetados, enquanto que nos bovinos e bubalinos presentes na propriedade não se observaram alterações clínicas.

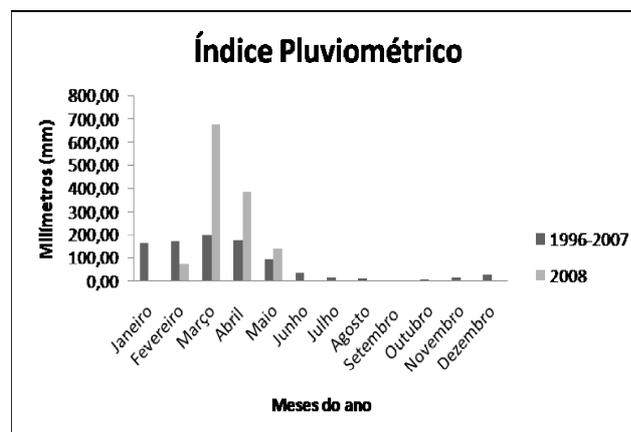


Fig.1. Índice Pluviométrico observado no ano de 2008 e no período de 1996-2007, no município de São João do Rio do Peixe, Paraíba. <http://www.aesa.pb.gov.br/> acessado em 10 de outubro, 2010.

Os bubalinos tinham sido introduzidos no início do ano na propriedade, provenientes do município de Recife, na zona da mata do estado do Pernambuco, na qual o clima se caracteriza como tropical úmido. O proprietário informou que durante o período chuvoso, a população de mutucas (*Tabanus* spp.) estava alta durante a ocorrência do surto. Depois do

início do surto, todos os ovinos do rebanho tinham sido tratados com vermífugos e vacinados contra clostridioses e os animais com sinais clínicos eram tratados com oxitetraciclina, sulfonamidas, ferro dextrano e suplementos à base de minerais, vitaminas e aminoácidos, sem que se registrasse nenhuma melhora do quadro clínico e nem deixassem de ocorrer novos casos. Para a realização desses tratamentos o produtor utilizava a mesma agulha e seringa para todos os animais tratados na mesma oportunidade.

Após o surto de tripanossomíase em ovinos, o proprietário introduziu outros seis búfalos oriundos do estado do Pernambuco. Em junho, sete bezerros de búfalos apresentaram intensa anemia e emagrecimento. Três morreram sem tratamento e 4 se recuperaram após serem tratados com Ganaseg[®] 7%.

Sinais clínicos

Os animais afetados (Fig. 2) apresentavam mucosas pálidas, falta de apetite, emagrecimento progressivo, pêlos eriçados e sem brilho, edema submandibular, diarreia, decúbito, abortos e mortalidade neonatal de aproximadamente 75%. Alguns animais eram encontrados mortos no curral ou no piquete, sem apresentar nenhuma alteração clínica. Os ovinos com emagrecimento progressivo e anemia apresentavam áreas de alopecia com formação de crostas. Amostras de pele coletadas e coradas com azul de metileno, foram positivas para *Dermatophilus congolensis*.

Alguns desses ovinos com severa anemia, quando eram exercitados, apresentavam tremores musculares, pressão da cabeça contra obstáculos, nistagmo e quedas (Fig. 3A e B). Esses animais quando deixados em repouso se recuperavam dos sinais neurológicos, permanecendo fracos e anêmicos. Alguns ovinos, que apresentavam perda de peso progressivo, morriam após apresentarem sinais neurológicos, caracterizados por decúbito lateral permanente, com movimentos de pedlagem, discretos tremores musculares, torção lateral da cabeça, depressão e perda da sensibilidade da face, durante dois a cinco dias.

Exames hematológicos e parasitológicos

Em 26 ovinos com anemia e perda de peso foram realizados hemograma e exame parasitológico de fezes. No hemograma a média do hematócrito foi de 21,92% \pm 3,95%, variando de 11% a 28%, a média das hemácias foi de $3 \pm 0,28 \times 10^6/\text{mm}^3$, variando de 2,7 a $7,8 \times 10^6/\text{mm}^3$ e a média da hemoglobina foi de $7,38 \pm 0,75$ g/dl, variando de 3,5 a 9,4g/dl. Nos dois ovinos sem sinais clínicos, os hemogramas apresentavam hematócrito de 31% em ambos,

e em um, hemácias de $4 \times 10^6/\text{mm}^3$ e concentração de hemoglobina de 10,4 g/dl enquanto, no outro, os valores foram de $4,3 \times 10^6/\text{mm}^3$ e 10,7 g/dl respectivamente.



Fig.2. Ovino apresentando emagrecimento acentuado, pelos eriçados, hipotricose e crostas na pele.



Fig.3. Ovino apresentando manifestações clínicas neurológicas. (A) Observa-se pressão da cabeça contra obstáculos e queda (B) após serem exercitados.

No exame parasitológico de fezes de seis ovinos, os valores de oocistos de *Eimeria* spp. variaram de 1.800 a 3.500 e foram encontrados 100 a 350 ovos de *Trichostrongyloidea* por grama de fezes.

Exemplares de protozoários flagelados com morfologia semelhante ao *Trypanosoma vivax* (Fig. 4) foram observados em 18 (66,6%) dos 27 esfregaços sanguíneos realizados em ovinos com sinais clínicos. Em três ovinos sem sinais clínicos e nos esfregaços sanguíneos realizados nos bovinos e búfalos, não se observou a presença do parasita.

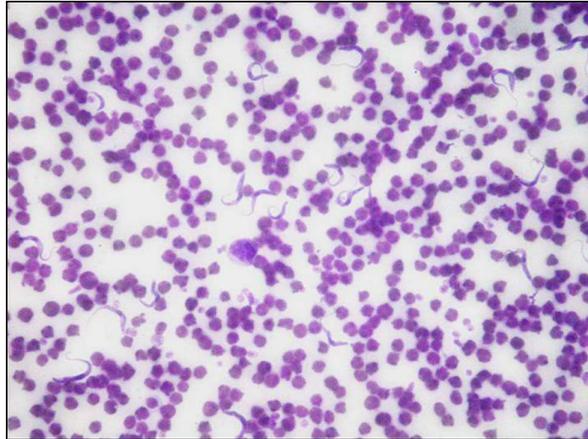


Fig.4. Esfregaço sanguíneo de ovino contendo numerosos exemplares de *T. vivax*. Panótico rápido. Obj. 40x.

PCR

Todas as 14 amostras de sangue de ovinos, dois saudáveis e 12 doentes, coletadas durante o surto resultaram positivas no PCR. Uma semana após o início do tratamento com Ganaseg[®] 7%, repetiu-se o exame de PCR com 11 ovinos anteriormente positivos, e todos foram negativos. Nessa ocasião não foram testados os animais que não tinham apresentado sinais e um doente havia morrido. Das 11 amostras de sangue coletadas, um mês após o surto, de ovinos que não apresentaram sinais clínicos e conseqüentemente não haviam sido tratados, 10 (91%) foram positivas no exame de PCR. As quatro amostras de bovinos e três das quatro amostras de bubalinos coletadas também um mês após o surto, resultaram positivas no PCR.

No exame de PCR realizado um ano após o surto 23 (22,7%) das 101 amostras de ovinos reagiram positivamente. Das amostras de búfalos, cinco de 15 foram positivas e das amostras de bovinos, uma de cinco reagiu positivamente. Todas as 29 amostras coletadas dos ovinos da propriedade vizinha foram negativas.

Achados de necropsia e histopatologia

Três ovinos e um feto abortado foram necropsiados, dos quais um tinha morrido espontaneamente (Ovino 1) e dois tinham sido eutanasiados (Ovinos 2 e 3). O Ovino 1 estava

em decúbito e apresentava $2,8 \times 10^6/\text{mm}^3$ de hemácias, 19% de hematócrito, hemoglobina de 6,4g/dl, e 1.800 oocistos de *Eimeria* spp. e 100 ovos de *Trichostrongyloidea* por gramas de fezes. O Ovino 2 apresentava emagrecimento e $5,7 \times 10^6/\text{mm}^3$ de hemácias, 19% do hematócrito, 6,0g/dl de hemoglobina e 2.500 oocistos de *Eimeria* spp. e 100 ovos de *Trichostrongyloidea* por gramas de fezes. Não foram realizados exames hematológicos e parasitológicos no Ovino 3. As alterações macroscópicas observadas nos três ovinos foram semelhantes e consistiam de estado corporal ruim, mucosas e carcaça pálidas, sangue aquoso, linfonodos e baço discretamente aumentados, atrofia da gordura pericárdica e presença de líquido translúcido nas cavidades torácica e abdominal e no saco pericárdico.

No exame histopatológico dos três ovinos observou-se miocardite caracterizada por áreas multifocais de infiltrado inflamatório mononuclear, composto por linfócitos e plasmócitos, associada a áreas de fibrose (Fig. 5A e B). No fígado havia moderado infiltrado mononuclear nos espaços porta com raras células de Mott.

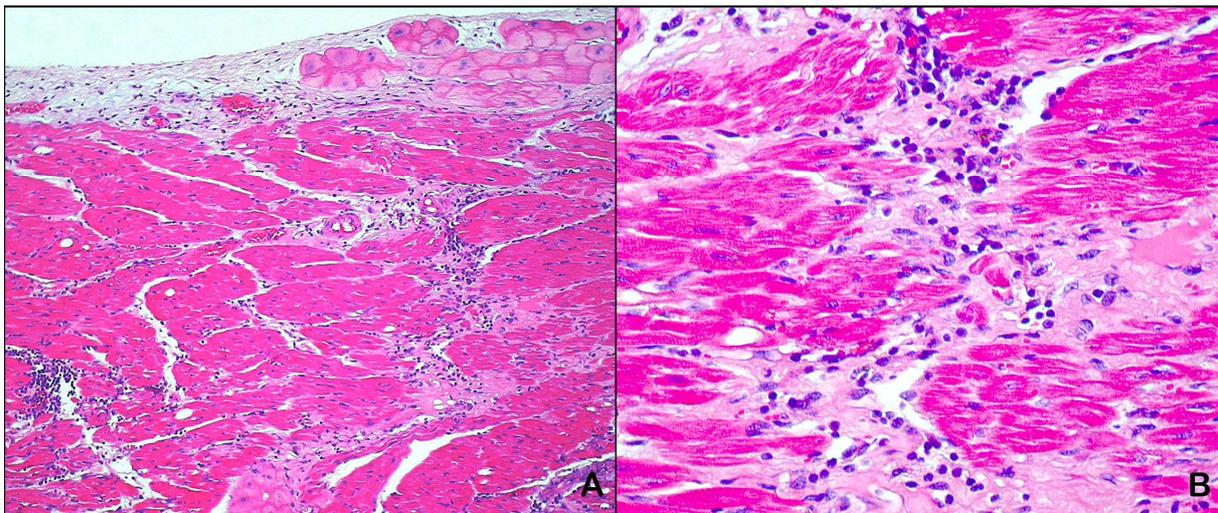


Fig.5. (A) Coração de ovino apresentando áreas multifocais de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado por entre os feixes de fibras musculares associadas a áreas de fibrose. Obj.10x. (B) Detalhe da lesão anterior. Obj. 40x. HE.

Nos linfonodos do Ovino 1 observou-se discreta presença de células de Mott. No baço dos Ovinos 2 e 3 identificou-se moderada hiperplasia da polpa branca e presença de pigmento amarelo-dourado no citoplasma dos macrófagos. No sistema nervoso central (SNC) do Ovino 3 evidenciou-se meningoencefalite não supurativa, caracterizada por acentuado infiltrado inflamatório mononuclear composto por linfócitos e plasmócitos nos espaços perivascularares, com até oito camadas de células. Vasculite e presença de raras células de Mott também foram

observadas. Essas lesões inflamatórias foram associadas com malácia da substância branca (Fig. 6A e B). As lesões eram mais acentuadas no córtex frontal e núcleos da base. Nos córtex parietal, occipital e temporal e no tálamo observou-se apenas infiltrado inflamatório mononuclear nas leptomeninges. No colículo rostral, cerebelo, óbex e ponte observou-se discreta leptomeningite mononuclear. No SNC do Ovino 2 observou-se discreto infiltrado inflamatório mononuclear perivascular nas leptomeninges dos núcleos da base, hipocampo, tálamo, córtex occipital e cerebelo. No Ovino 1 não foram observadas alterações inflamatórias no SNC.

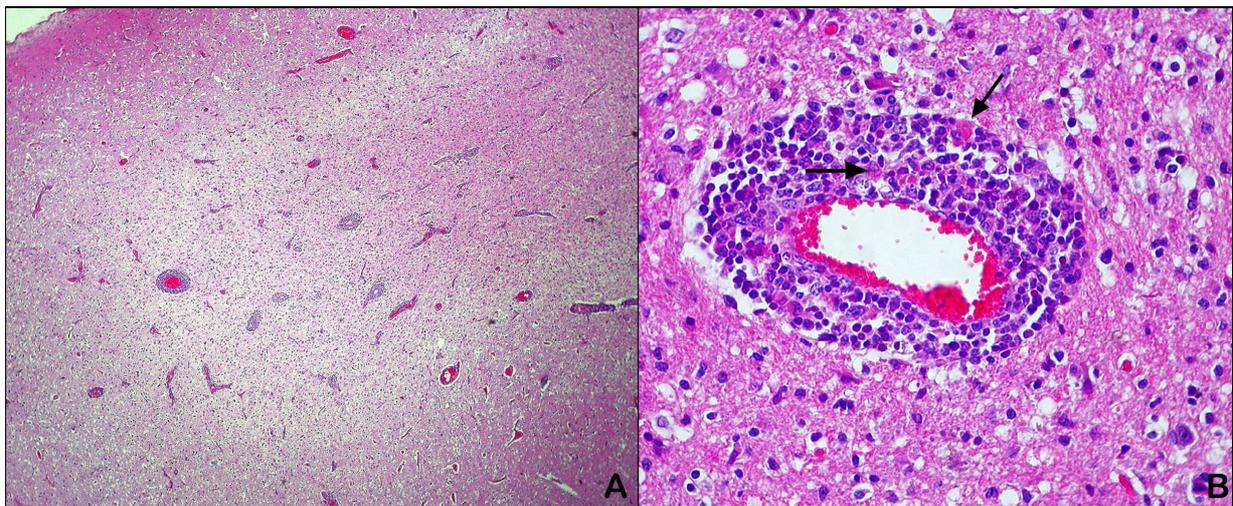


Fig.6. Encéfalo de ovino apresentando acentuado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário ao redor dos vasos e malácia da substancia branca (A), Obj. 10x, e vasculite com até oito camadas de células mononucleares e presença de raras células de Mott (setas) (B), Obj. 40x. HE.

Não foram observadas alterações macro e microscópicas no feto abortado.

Tratamento

Trinta ovinos doentes foram tratados, desses 24 animais se recuperaram, cinco morreram e um, que apresentava sinais neurológicos (Ovino 3), não se recuperou e foi eutanasiado. Nesse período ocorreram quatro abortos, sendo três em ovelhas que não apresentaram sinais clínicos e um em uma ovelha que apresentava sinais, foi tratada e abortou oito dias após.

Um mês depois do tratamento não foram observados novos casos e os ovinos afetados se recuperaram totalmente. Novos casos de tripanossomíase não foram observados até dezembro de 2010.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de tripanossomíase causada por *T. vivax* foi baseado nos dados epidemiológicos, hematológicos, clínicos, patológicos e pela identificação do parasita em esfregaços sanguíneos e pela técnica de PCR. A presença de baixo número de ovos de helmintos nas fezes e o fato de que os ovinos tinham sido tratados repetidamente com anti-helmínticos, sem apresentar nenhuma melhora clínica, foi importante para o diagnóstico diferencial com hemonose, que é a doença mais frequente de ovinos no semiárido brasileiro (Costa et al., 2009). Também em alguns surtos de anemia que foram associados à infecções por *T. vivax* não foi descartada a possibilidade da ocorrência de doenças com sintomatologia semelhante, como a hemonose (Applewhaite, 1990). No Brasil em algumas áreas, como o Pantanal (uma região tropical úmida que se localiza dentro dos estados brasileiros do Mato Grosso do Sul e Mato Grosso) *T. vivax* pode ser encontrado, sem causar sinais clínicos, em animais em boas condições nutricionais ou afetados por outras doenças (Paiva et al., 2000).

Tem sido sugerido que a região semiárida do Brasil é de instabilidade enzoótica para *T. vivax* e que os surtos ocorrem quando o parasita é introduzido em rebanhos susceptíveis, após o aumento da população de vetores mecânicos (*Tabanus* spp.) (Batista et al., 2007). Como, na região, a época de chuvas é de curta duração (janeiro-fevereiro a maio-junho) os tabanídeos, que são aparentemente o principal vetor mecânico, ocorrem somente durante alguns meses do ano, o que é insuficiente para manter o parasita no rebanho (Batista et al., 2007). Em outras regiões do Brasil a presença de vetores mecânicos durante grande parte do ano e a alta frequência de anticorpos faz com que a enfermidade não ocorra, mesmo na presença do parasita (Paiva et al., 2000).

No surto descrito neste trabalho, os dados epidemiológicos e a ausência de *T. vivax* na propriedade vizinha sugerem que os búfalos, introduzidos no rebanho antes do surto, tenham sido a fonte de infecção para os ovinos. Na América do Sul o *T. vivax* pode infectar bovinos, bubalinos, ovinos e caprinos (Desquesnes & Gardiner, 1993; Garcia et al., 2006; Batista et al., 2007, 2009) e surtos de tripanossomíase têm sido atribuídos à introdução de animais infectados em rebanhos sem anticorpos (Batista et al., 2007) ou por uma falha na imunidade decorrente de estresse (Wells et al., 1982). Nesse surto, os búfalos eram oriundos da zona da mata do estado de Pernambuco, região onde o clima tropical úmido, com índice pluviométrico maior que a região do semiárido, provavelmente favorece a permanência de vetores mecânicos por longos períodos durante o ano.

Nesse surto, a transmissão inicial ocorreu, possivelmente, através da picada de vetores mecânicos (*Tabanus* spp.), pois os ovinos pastavam junto dos bubalinos e bovinos e no final

do dia eram todos recolhidos no mesmo curral. Além disso, o surto ocorreu durante a época de chuva, que nesse ano foi mais intensa que nos anos anteriores (Fig. 1), ocasionando, segundo o produtor, aumento no número de tabanídeos. Situação semelhante foi relatada em dois surtos de tripanossomíase em bovinos na região do semiárido do Brasil (Batista et al., 2007, 2009). Na Colômbia um surto em bovinos também foi associado ao aumento da população de tabanídeos no período chuvoso (Otte et al., 1994). A transmissão mecânica do *T. vivax* por tabanídeos ocorre quando o repasto sanguíneo de um animal altamente parasitado é interrompido e reiniciado, em um período menor que 10 minutos, em outro animal saudável (Otte & Abuabara, 1991). Provavelmente um fator importante para a ocorrência da doença em ovinos deslanados, é a característica da sua pelagem que permite o ataque dos tabanídeos em toda superfície do corpo. Situação oposta é observada em ovinos lanados, onde boa parte da superfície corporal está protegida.

Um fator que pode ter contribuído para a disseminação do *T. vivax* entre os ovinos do rebanho foi a utilização de uma mesma agulha na administração de diversas drogas na fase inicial da doença. Situação semelhante ocorreu em um surto de tripanossomíase por *T. evansi* em equinos no Rio Grande do Sul (Rodrigues et al., 2005). A propagação da transmissão dos tripanossomas entre mamíferos pode ocorrer de forma iatrogênica, através do uso de agulhas ou instrumentos contaminados com sangue infectado durante a vacinação ou tratamento massal do rebanho (Hoare, 1972; Jones & Dávila, 2001).

Apesar da alta frequência da doença, *T. vivax* foi detectado por PCR em alguns ovinos saudáveis e também em bovinos e búfalos, demonstrando a ocorrência de casos inaparentes, que provavelmente ocorrem devido à resistência individual ou à pequena dose infectante.

Alguns ovinos foram encontrados mortos, mas a maioria apresentou emagrecimento, anemia, apatia, edema submandibular e aborto. Os sinais clínicos de emagrecimento e anemia foram semelhantes aos descritos por vários autores em infecções naturais e experimentais em ovinos (Losos & Ikede, 1972; Dávila & Silva, 2000; Batista et al., 2006, 2009). No entanto, sinais nervosos com lesões inflamatórias e degenerativas no SNC observadas nesse surto não foram relatados anteriormente em surtos de tripanossomíase em ovinos, embora lesões semelhantes no SNC são descritas em bovinos infectados por *T. vivax* (Batista et al., 2007, 2008). As lesões inflamatórias foram acentuadas no Ovino 3, moderadas no Ovino 2 e ausentes no Ovino 1. No Ovino 3, que não se recuperou após o tratamento, os sinais nervosos foram associados a graves lesões no SNC, e a falta de eficácia do tratamento pode ser devida à presença de tripanossomas no sistema nervoso, onde os parasitas são protegidos das drogas tripanocidas (Batista et al., 2007). Alguns ovinos demonstraram sinais nervosos transitórios

quando movimentados durante a inspeção do rebanho, o que, além de possíveis lesões do SNC, pode ter sido causado pela hipóxia cerebral, devida à anemia grave. Manifestações clínicas neurológicas sem a presença de lesões microscópicas do encéfalo foram descritas em caprinos e ovinos infectados experimentalmente (Losos & Ikede, 1972; Whitelaw et al., 1988) e, recentemente, além de sinais neurológicos, lesões inflamatórias do sistema nervoso central foram observadas em ovinos infectados experimentalmente com *T. vivax* proveniente do isolamento de surto da doença em bovinos no estado da Paraíba (Almeida et al., 2010).

Os achados laboratoriais, caracterizados pela diminuição do número de hemácias, do hematócrito e da hemoglobina, são semelhantes aos observados em ovinos infectados experimentalmente (Batista et al., 2006). A anemia provocada por *T. vivax* é considerada multifatorial, sendo atribuída à hemólise intra e extravascular, à diminuição ou inibição da eritropoiese e a hemorragias (Holmes, 1987).

A ausência de alterações macroscópicas significativas, exceto achados de anemia grave, observados nesse surto é comum na infecção por *T. vivax* (Losos & Ikede, 1972; Batista et al., 2007). As lesões histológicas caracterizadas por infiltrado inflamatório mononuclear e fibrose no coração, hiperplasia da polpa branca do baço e infiltrado inflamatório no fígado são semelhantes às descritas por outros autores (Saror, 1980; Anosa, 1983; Batista et al., 2006). As alterações histológicas de inflamação e malácia da substância branca no sistema nervoso central, são semelhantes às observadas em bovinos infectados por *T. vivax* (Batista et al., 2007), equinos infectados por *T. evansi* (Rodrigues et al., 2005) e nos humanos infectados por *T. brucei* e *T. cruzi* (Poltera et al., 1977; Antunes et al., 2002). Essa é a primeira descrição de lesões do SNC na infecção por *T. vivax* em ovinos. Também em bovinos essas lesões foram descritas em um único surto (Batista et al., 2007). No entanto, é provável que a escassez de descrições de lesões do SNC nas infecções por *T. vivax* esteja associada ao pequeno número de necropsias realizadas nos casos de tripanossomíase, cujo diagnóstico, na grande maioria dos casos é realizado apenas pela presença do parasita no sangue.

O controle da doença nesse surto, com o tratamento dos casos clínicos, foi eficiente. Esse fato demonstra ser desnecessário o tratamento massal do rebanho, uma vez que essa prática pode favorecer a ocorrência de resistência a drogas tripanocidas. Nas áreas onde não ocorre a transmissão cíclica do *T. vivax* pela mosca tsetse e a transmissão ocorre mecanicamente, os métodos de controle e tratamento são relativamente simples, visto que o tratamento precoce provoca rápida cessão da transmissão mecânica (Stephen, 1986; Batista et al., 2007).

Como conclusão, a tripanossomíase por *T. vivax* em ovinos é uma enfermidade de ocorrência rara na região do semiárido brasileiro, causando anemia, perda de peso, abortos e sinais neurológicos, com elevada mortalidade quando não tratada. A tripanossomíase em ovinos deve ser considerada como diagnóstico diferencial de enfermidades que causam anemia (como as parasitoses gastrointestinais), aborto (causado por causa infecciosa ou ingestão de plantas tóxicas) e sinais neurológicos (como a raiva e a listeriose). A doença pode ser controlada mediante tratamento com diaceturato de diminazene e seu diagnóstico deve ser realizado com base nos dados epidemiológicos, sinais clínicos, hemograma, esfregaço sanguíneo e achados histopatológicos.

REFERÊNCIAS

- Almeida, K.S., Freitas, F.L.C., Tebaldi, J.H., Alessi, A.C., Machado, R.Z., Nascimento, A.A., 2010. Alterações clínicas, histopatológicas e enzimáticas em ovinos infectados experimentalmente por *Trypanosoma vivax*. Ci. Anim. Bras.11, 669-676.
- Anosa, V.O., 1983. Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. Vet. Med. 30, 717-741.
- Antunes, A.C.M., Cecchini, F.M.L., Bolli, F.V.B., Oliveira, P.P., Rebouças, R.G., Monte, T.L., Fricke, D., 2002. Cerebral Trypanosomiasis and AIDS. Arq. Neuropsiquiatr. 60, 730-733.
- Applewhaite, L.M., 1990. Small ruminant trypanosomiasis in Guyana: A preliminary report. Brit. Vet. J. 146, 93-94.
- Batista, J.S., Riet-Correa, F., Barbosa, R.C., Guerra, J.L., 2006. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 26, 31-37.
- Batista, J.S., Riet-Correa, F., Teixeira, M.M.G., Madruga, C.R., Simões, S.V.D., Maia, F., 2007. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. Vet. Parasitol. 143, 174-181.
- Batista, J.S., Bezerra, F.S., Lira, R.A., Carvalho, J.R.G., Neto, A.M.R., Petri, A.A., Teixeira, M.M.G., 2008. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. Pesq. Vet. Bras. 28, 63-69.
- Batista, J.S., Oliveira, A.F., Rodrigues, C.M.F., Damasceno, C.A.R., Oliveira, I.R.S., Alves, H.M., Paiva, E.S., Brito, P.D., Medeiros, J.M.F., Rodrigues, A.C., Teixeira, M.M.G., 2009. Infection by *Trypanosoma vivax* in goats and sheep in the Brazilian semiarid

- region: From acute disease outbreak to chronic cryptic infection. *Vet. Parasitol.* 165, 131-135.
- Costa, V.M.M., Simões, S.V.D., Riet-Correa, F., 2009. Doenças parasitárias em ruminantes no semi-árido brasileiro. *Pesq. Vet. Bras.* 29, 563-568.
- Dávila, A.M.R., Silva, R.A.M.S., 2000. Animal trypanosomiasis in South America. current status, partnership, and information technology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 916, 199-212.
- Desquesnes, M.T., Gardiner, P.R., 1993. Epidemiologie de la trypanosomes bovine (*Trypanosoma vivax*) en Guayane Française. *Rev. Elevage Med. Vét. Pays Trop.* 46, 463-470.
- Garcia, H., Garcia, M.E., Perez, G., Bethancourt, A., Zerpa, E., Perez, H., Leon, A.M., 2006. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 100, 297-305.
- Gardiner, P.R., Assoku, R.K.G., Whitelaw, D.D., Murray, M., 1989. Haemorrhagic lesion resulting from *Trypanosoma vivax* infection in Ayrshire cattle. *Vet. Parasitol.* 31, 187-198.
- Hoare, C.A., 1972. The trypanosomes of mammals: a zoological monograph. Oxford: Blackwell, 749 p.
- Holmes, P.H., 1987. Pathophysiology of parasitic infections. *Parasitol.* 94, 529-551.
- Jones, T., Dávila, A.M.R., 2001. *Trypanosoma vivax* out of Africa. *Trends in Parasitol.* 17, 99-101.
- Jordan, A.M., 1986. Trypanosomiasis control and African rural development. 1st ed. Logman, New York. 325p.
- Leger, M., Vienne, M., 1919. Epizootie a trypanosomes chez lês bovines de la Guayane Française. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 12, 216-258.
- Losos, G.J., Ikede, B.O., 1972. Review of pathology of diseases in domestic and laboratory animals caused by *T. congolense*, *T. vivax*, *T. brucei*, *T. rhodensiense* and *T. congolense*. *Vet. Pathol.* 9, 267-274.
- Otte, M.J., Abuabara, J.Y., 1991. Transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. *Acta Trop.* 49, 73-76.
- Otte, M.J., Abuabara, J.Y., Wells, E.A., 1994. *Trypanosoma vivax* in Colombia: epidemiology and production losses. *Trop. Anim. Health Prod.* 26, 146-156.
- Paiva, F., Lemos, R.A.A., Nakato, L., Mori, A.E., Brum, K.B., Bernardo, K.C., 2000. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I

- Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 9, 135-141.
- Poltera, A.A., Owor, R., Cox, J.N., 1977. Pathological aspects of human African trypanosomiasis (HAT) in Ungada: a post-mortem survey of fourteen cases. Virchows Arch.: Pathol. Anat. Histol. 373, 249-265.
- Rodrigues, A., Figuera, R.A., Souza, T.M., Schild, A.L., Soares, M.P., Milano, J., Barros, C.S.L., 2005. Surtos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em eqüinos no Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. Pesq. Vet. Bras. 25, 239-249.
- Saror, D.I., 1980. Observation on the course and pathology of *Trypanosoma vivax* in Red Sokoto goats. Veterinary Science. 28, 36-38.
- Shaw, J.J., Lainson, R., 1972. *Trypanosoma vivax* in Brazil. Ann. Trop. Med. Parasitol. 66, 25-32.
- Silva, R.A.M.S., Silva, J.A., Schneider, R.C., Freitas, J., Mesquita, D., Mesquita, T., Ramirez, L., Dávila, A.M.R., Pereira, M.E.B., 1996. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 91, 561-562.
- Silva, R.A.M.S., Ramirez, L., Souza, S.S., Ortiz, A.G., Pereira, S.R., Dávila, A.M.R., 1999. Hematology of natural bovine trypanosomiasis in the Brazilian Pantanal and Bolivian Wetlands. Vet. Parasitol. 85, 87-93.
- Smith, B.P., 2006. Medicina interna de grandes animais. 3.ed. Manole, São Paulo, 1728p.
- Stephen, L.E., 1986. Trypanosomiasis: a veterinary perspective. 1st ed. Pergamon Press, New York. 533p.
- Ventura, R.M., Paiva, F., Silva, R.A.M.S., Takeda, G.F., Buck, G.A., Teixeira, M.M.G., 2001. *Trypanosoma vivax*: characterization of the spliced-leader gene for a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic space sequence. Exp. Parasitol. 99, 37-48.
- Wells, E.A., Bethancourt, A., Ramirez, L.E., 1982. *Trypanosoma vivax* in Colombia: Epidemiology and economic impact. World Animal Review. 43, 17-23.
- Whitelaw, D.D., Gardiner, P.R., Murray, M., 1988. Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. Parasitology. 97, 51-61.

Conclusão

As enfermidades do sistema nervoso são a principal causa de mortes em bovinos no semiárido nordestino. Dentre as doenças, destacam-se a raiva como a principal doença que afeta os bovinos, seguida pelos abscessos no sistema nervoso central. Além dessas doenças, também foram diagnosticados casos de febre catarral maligna, botulismo, alterações congênitas, traumatismo, tuberculose, tétano, encefalite por Herpesvírus bovino tipo 5, encefalomielite não supurativa, intoxicação por *Prosopis juliflora*, *status spongiosus* congênito de causa desconhecida, polioencefalomalacia, criptococose, listeriose, encefalite tromboembólica, linfossarcoma, tripanossomíase e babesiose.

A tripanossomíase em ovinos cursa com anemia, emagrecimento progressivo, aborto e sinais neurológicos e, se não for tratada, causa elevada mortalidade.

A doença é rara no semiárido, uma vez que essa região é de instabilidade enzoótica, ocorrendo surtos quando o agente é introduzido na presença de vetores (Tabanídeos).

O diagnóstico da infecção por *Trypanosoma vivax* nos ovinos deve estabelecer-se pelos dados epidemiológicos, hematológicos, sinais clínicos, achados histopatológicos e identificação do parasita em esfregaços sanguíneos, devendo ser descartadas outras doenças que causam anemia e perda de peso, principalmente a hemoncose.

ANEXOS

Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in hair sheep with lesions of the central nervous system

G.J.N. Galiza⁶, A.C.O. Assis^a, D.M. Oliveira^a, L.A. Pimentel^a, A.F.M. Dantas^a, S.V.D. Simões^a, M.M.G. Teixeira⁷, F. Riet-Correa^{a,*}

^aHospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba 58700-000, Brazil

^bDepartamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo,

Av. Prof. Lineu Prestes 1374, 05508-900 São Paulo, Brazil.

ABSTRACT.- This paper reports an outbreak of trypanosomiasis caused by *Trypanosoma vivax* in sheep on a farm in the state of Paraíba. From a total of 306 sheep, 216 were affected and died. Cattle and buffalo that remained in the same pasture were not affected. Clinical signs were anorexia, lethargy, anemia, rough hair coat, weight loss, submandibular edema, abortion, and in some cases, nervous signs such as head pressing, lateral recumbence, paddling movements and muscle tremor. *T. vivax* was identified by their morphology in blood smears and by polymerase chain reaction (PCR). At necropsy there was watery blood, pale carcass and presence of liquid in the peritoneal cavity and pericardial sac. Non suppurative myocarditis and meningoencephalitis with areas of malacia were observed histologically. The affected animals recovered after treatment with diminazene aceturate. After treatment the parasite was not detected in blood smears or PCR. It is suggested that the

* Corresponding author. Fax: +55 83 3421 3231

E-mail address: franklin.riet@pq.cnpq.br

parasite was introduced to the farm by carrier buffalo and was transmitted by tabanids, which were abundant during the outbreaks, and probably also by iatrogenic transmission. It is suggested that the Brazilian semiarid region is non-endemic for trypanosomiasis and the disease can occur if the parasite is introduced in the presence vectors.

INDEX TERMS: *Trypanosoma vivax*, sheep, anemia, weight loss, hemoparasites, nervous signs.

1. Introduction

The trypanosomes are flagellate protozoa that cause a variety of diseases in humans and animals (Smith, 2006), however subclinical infections by potentially pathogenic trypanosomes and infections by non-pathogenic trypanosomes are frequent (Stephen, 1986). In Africa, trypanosomiasis is widely distributed and is caused by several species of *Trypanosoma* in areas occupied by its biological vector, the tsetse fly (*Glossina* spp.) (Hoare, 1972; Gardiner et al., 1989).

In South America two species of *Trypanosoma* have economic importance. *T. evansi* causes trypanosomiasis in horses and other mammals (Rodrigues et al., 2005), and *T. vivax* causes disease in ruminants (Silva et al., 1999; Batista et al., 2007, 2009). *T. vivax* has adapted to mechanical transmission by bloodsucking insects, such as *Tabanus* spp. and *Stomoxys* spp., which determines its occurrence in regions where *Glossina* spp. is not present (Anosa, 1983; Otte and Abuabara, 1991).

In Latin America the first case of trypanosomiasis caused by *T. vivax* was reported in cattle in French Guiana in 1919 (Leger and Vienne, 1919). In Brazil *T. vivax* was first reported in buffalo near the city of Belém, in the state of Pará (Shaw and Lainson, 1972). Silva et al. (1996) identified *T. vivax* in cattle in the Pantanal of Mato Grosso. In Northeastern

Brazil the first outbreak of trypanosomiasis by *T. vivax* occurred in the municipality of Catolé do Rocha, in the semiarid region of the state of Paraíba (Batista et al., 2007).

The main clinical signs of infection by *T. vivax* are fever, anemia, decreased milk production, anorexia, progressive weakness, emaciation, corneal opacity, abortion, diarrhea, hemorrhages (Dávila and Silva, 2000; Batista et al., 2007) and nervous signs (Batista et al., 2007). Infection by *T. vivax* in small ruminants is uncommon in natural conditions, even in areas where the tsetse flies are present, because it rarely feeds on sheep and goats (Anosa, 1983; Jordan, 1986).

In Brazil the first report of trypanosomiasis in sheep and goats by *T. vivax*, occurred in the Brazilian Northeastern region, causing anemia, weight loss and abortion (Batista et al., 2009); nervous signs were not reported and necropsies were not performed. This paper aims to report the clinical signs, including nervous signs, and epidemiological, hematological and pathological findings of an outbreak of trypanosomiasis by *T. vivax* in hair sheep of the Santa Inês breed.

2. Material and methods

The outbreak occurred in a flock of 306 sheep in the municipality of São João do Rio do Peixe, state of Paraíba, northeastern Brazil. The region is characterized by a semiarid climate with a mean temperature of 26°C and 500-800 mm annual mean rainfalls. The rains are irregular and in some years rainfalls are insignificant or low. The rainy season is short, from January-February to April-May. The relative humidity is low, ranging from 60% to 75%, and the vegetation, named *caatinga*, is an exclusive Brazilian biome, occupying almost 11% of the Country surface. This vegetation is characteristic of the semiarid conditions (xerophytic) with presence of bushes with twisted branches and deep roots, also cacti and bromeliads.

Epidemiological data were collected in five visits to the farm. During those visits the pastures and the flock were inspected, the animals were examined clinically and samples were collected for laboratory examinations. During the first two visits samples of blood, with EDTA, for realization of hemograms, were collected from 26 sheep with anemia and/or emaciation and two animals without clinical signs and good body condition. Blood smears were obtained by puncturing the marginal ear vein of 27 sheep with clinical signs and three without clinical signs. The smears were stained by the quick Panoptic method. Samples from 2 healthy and 12 affected sheep were collected and mixed with ethanol (1.5 ml blood and 1.5 ml of ethanol) for PCR examination according to Ventura et al. (2001). Feces from 6 sheep with clinical signs were examined for gastrointestinal parasites. Three sheep and an aborted fetus were necropsied. Samples of the organs of the abdominal and thoracic cavities and the whole central nervous system (CNS) were fixed in 10% buffered formalin. For evaluation of the CNS, transverse sections of medulla oblongata, pons, rostral colliculi, thalamus, internal capsule, cortex, cerebellar peduncles, and cerebellum were examined histologically. All tissues were processed routinely for preparation of paraffin blocks, then cut into 5µm thick sections, and stained with hematoxylin and eosin.

Thirty sheep with clinical signs were treated with 3.5 mg /kg bw of diminazene aceturate (Ganaseg[®]7%). The treatment was repeated three times administered intramuscularly with an interval of eight days. Eight days after the first treatment blood smears of the marginal ear vein of 11 recovered sheep were examined for the presence of trypanosomes, and blood samples of the same sheep were examined by PCR. One month after the end of treatment, blood samples from 11 non previously affected sheep, four bovines and four buffalo were collected for PCR examination. On the same date blood smears from the marginal ear vein of four cattle and four buffaloes were examined. In August 2009, a year after the outbreak, blood samples of 62 out of 101 sheep, and all bovines (5), and buffalo (15)

were collected and mixed with ethanol for PCR examination. Twenty five sheep samples from a flock of 126 sheep from a neighboring farm were also collected for PCR examination.

3. Results

Epidemiology

The farm where the outbreak of trypanosomiasis occurred had approximate 1200 hectares, situated on the border of a river (Rio do Peixe), in pastures of native grasses and *Brachiaria decumbens*. From a total of 306 young and adult hair sheep of Santa Ines breed, 216 (70.58%) died during April-July 2008. The rainy season this year, especially during March, April and May was more abundant than the average rainy season for the period 1996-2007 in the region (Fig. 1). The sheep were raised extensively, grazing in the same pastures than 14 cattle and 6 buffalo and in the late afternoon all animals were closed in the same corral. Only sheep were affected. No clinical signs were observed in cattle and buffalo. The buffalo were introduced in the start of the year from the municipality of Recife in the state of Pernambuco, situated in the coastal region where there is a tropical humid climate. The farmer reported that during the rainy season, the population of horseflies (*Tabanus* spp.) was high. After the start of the outbreak all sheep in the flock were treated with anti-helminthics and vaccinated against clostridial diseases and the animals with clinical signs were treated without results with oxytetracycline, sulfonamides, iron dextran, mineral supplements, vitamins and amino acids. No results were observed and new cases of the disease still occurring. To perform these treatments, the farmer used the same needle for all animals treated in the same day.

After the outbreak of trypanosomiasis in sheep the owner introduced six buffalo calves from the state of Pernambuco. In June, the farmer observed seven buffalo calves with severe

anemia and weight loss. Three buffalo died without treatment and 4 recovered after being treated with diminazene aceturate.

Clinical signs

Affected animals (Fig. 2) had pale mucous membranes, poor appetite, weight loss, rough hair coat, submandibular edema, diarrhea, and recumbence. Perinatal mortality, due to abortions and neonatal deaths, was nearly 75%. Some animals were found dead in the stable or in the paddock without showing any clinical sign. Some sheep with progressive weight loss and anemia showed areas of alopecia with crust formation, which were positive for *Dermatophilus congolensis* in skin smears stained by methylene blue. Some of these sheep with severe anemia, when were exercised had muscle tremors, head pressing, nystagmus and falls. These animals when left in repose recovered from neurological signs, remaining weak and anemic (Fig.3A and B). Some sheep that showed progressive weight loss died after showing neurological signs for 2-5 days, characterized by depression, slight muscle tremors, lateral torsion of the head, loss of face sensation, and permanent lateral recumbence with paddling.

Hematological and parasitologic examination

In hematologic examination of 26 sheep with anemia and weight loss the mean hematocrit was $21.92\% \pm 3.95\%$, ranging from 11% to 28%, the mean red cells count was $3 \pm 0.28 \times 10^6/\text{mm}^3$, ranging from 2.7 to $7.8 \times 10^6/\text{mm}^3$ and the mean hemoglobin was 7.38 ± 0.75 g/dl, ranging from 3.5 to 9.4g/dl. In two sheep without clinical signs, the hematocrit was 31% in both animals, red cells counts were 4 and $4.3 \times 10^6/\text{mm}^3$, and hemoglobin concentration was 10.4 and 10.7g/dl.

The feces of six sheep with clinical signs had 1,800 to 3,500 oocysts of *Eimeria* spp. and 100 to 350 eggs of *Trichostrongyloidea* per gram of feces.

Protozoa flagellates morphologically similar to *Trypanosoma vivax* (Fig.4), were observed in 18 (66.6%) of the 27 blood smears examined from sheep with clinical signs. No trypanosomes were found in the blood smears of 3 sheep without clinical and in the smears from cattle and buffalo.

PCR

All 14 blood samples collected from 2 healthy and 12 sick sheep during the outbreak were positive for *Trypanosoma vivax* in the PCR. A week after starting treatment with diminazene aceturate, the PCR from the 11 previous positive sheep were all negative. On this occasion samples from the two healthy sheep and from one affected sheep that died were not examined. Of the 11 blood samples collected one month after the outbreak from sheep that did not showed clinical signs and consequently were not treated, 10 (91%) were positive on PCR examination. The four samples of cattle and three of the four samples collected from buffaloes also one month after the outbreak, were positive by PCR.

In the PCR test performed one year after the outbreak, 23 (22.7%) of 101 sheep samples reacted positively. Five out of 15 (33.3%) buffalo samples and 20% (1/5) cattle samples were also positive. All 29 samples collected from sheep from a neighbor farm were negative.

Necropsy and histopathology

One sheep that died spontaneously (Sheep 1), two that were euthanized (Sheep 2 and 3), and 1 aborted fetus were necropsied. Sheep 1 was recumbent and showed $2.8 \times 10^6/\text{mm}^3$ of red cell, 19% of hematocrit, 6.4g/dl of hemoglobin, and 1,800 oocysts of *Eimeria* spp. and 100 *Trichostrongyloidea* eggs per gram of feces. Sheep 2 showed emaciation and $5.7 \times 10^6/\text{mm}^3$ of red cell, 19% of hematocrit, 6.0g/dl of hemoglobin, 2,500 oocysts of *Eimeria* spp. and 100 eggs of *Trichostrongyloidea* per gram of feces. Macroscopic changes observed in the three sheep were similar and included poor body condition, mucous and pale carcass, aqueous

blood, slightly enlarged lymph nodes and spleen, atrophy of pericardial fat, and presence of translucent liquid in thoracic and abdominal cavities and pericardial sac.

Upon histologic examination the three sheep showed a multifocal myocarditis with mononuclear cell infiltrate composed of lymphocytes and plasma cells, associated with areas of fibrosis (Fig. 5A and B). Moderate mononuclear infiltrate in the portal spaces with few Mott cells was observed in the liver. Discrete presence of Mott cells were observed in the lymph nodes of Sheep 1. The spleen of Sheep 2 and 3 showed moderate hyperplasia of white pulp and presence of yellow golden pigment in the cytoplasm of macrophages. The CNS of Sheep 3 revealed a severe nonsuppurative meningoencephalitis with marked perivascular mononuclear inflammatory infiltrate composed of lymphocytes and plasma cells, with up to eight layers of cells. Vasculitis and presence of rare Mott cells were also observed. Those inflammatory lesions were associated with malacia of the white matter (Fig. 6A and B). The lesions were more accentuated in frontal cortex and basal nuclei. In the parietal, occipital and temporal cortex and in the thalamus, there was only mononuclear inflammatory infiltrate in the leptomeninges. In the rostral colliculus, cerebellum, obex and pons a discrete mononuclear leptomeningitis was observed. In the CNS of Sheep 2 a discrete mononuclear infiltrate was observed in the leptomeninges of the basal nuclei, hippocampus, thalamus, occipital cortex and cerebellum. No inflammatory changes were observed in the CNS of Sheep 1. There were no significant lesions in an aborted fetus from a sheep that showed clinical signs and aborted after treatment with diminazene aceturate.

Treatment

All sheep with clinical signs were treated with three applications of diminazene aceturate at a dose of 3.5 mg/kg body weight at intervals of eight days. After treatment, 24 animals recovered, 5 died and 1 with neurological signs (Sheep 3) did not recover and was

ethanized. After treatment of sheep with clinical signs 3 untreated and 1 treated sheep aborted.

One month after treatment no new cases were observed and affected sheep were totally recovered. No new cases of trypanosomiasis had been observed until December 2010.

4. Discussion

The diagnosis of trypanosomiasis caused by *T. vivax* was based in the epidemiological data, hematology, clinical signs, pathologic findings, and identification of the parasite in blood smears and by PCR. The presence of low numbers of helminth eggs in the feces and the lack of response to anti-helminthic treatment was important for the differential diagnosis with hemonchosis, which is the most common disease of sheep in Brazilian semiarid (Costa et al., 2009). Also in some outbreaks of anemia associated with *T. vivax* was not ruled out the possibility of occurrence of diseases with similar clinical signs, such as hemonchosis (Applewhaite, 1990). In Brazil in some areas, such as the Pantanal (a tropical wetland that lies mostly within the Brazilian states of Mato Grosso do Sul and Mato Grosso), *T. vivax* can be encountered without causing clinical signs in animals in good nutritional conditions or affected by other diseases (Paiva et al., 2000).

It has been suggested that the semiarid region of Brazil is non-endemic for trypanosomiasis and that the disease occurs due to introduction of the parasite in a susceptible population after a rise in the *Tabanus* spp. population (Batista et al., 2007). Because in the region the rainy season is short (January-February to May-June) the tabanids, which are apparently the main mechanical vector, occur only during the short rainy season, which is insufficient to maintain the parasite in the flock (Batista et al., 2007). In other Brazilian regions, due to the presence of mechanical vectors during a large period of the year and a

consequently high frequency of antibodies the disease does not occur, even in the presence of the parasite (Paiva et al., 2000).

In the outbreak reported in this paper, the epidemiological data and the absence of *T. vivax* in neighboring farm, suggest that buffalo introduced in the herd before the outbreak were the source of infection for sheep. In South America, *T. vivax* can infect cattle, buffalo, sheep and goats (Desquesnes and Gardiner, 1993, Garcia et al., 2006, Batista et al., 2007, 2009) and outbreaks of trypanosomiasis have been attributed to the introduction of infected animals in herds without antibodies (Batista et al., 2007) or a failure in immunity due to stress (Wells et al., 1982). The buffalo were from the coastal region of the state of Pernambuco, a region where the humid tropical climate and higher rainfalls than in the semiarid region may promote the presence of mechanical vectors along most times of the year. The initial transmission occurred, possibly through the bite of mechanical vectors (*Tabanus* spp.), because the sheep were grazing in the same pastures than cattle and buffalo and at the end of the day, all were placed in the same corral. Furthermore, the outbreak occurred during the rainy season, with higher rainfalls than in previous years (Fig. 1), which was associated, according to farmer, with an increase in number of tabanids. A similar situation was reported in outbreaks of trypanosomiasis in cattle in the Brazilian semiarid region (Batista et al., 2007, 2009). In Colombia an outbreak in cattle was also associated with increased population of tabanids during the rainy season (Otte et al., 1994). The mechanical transmission of *T. vivax* by tabanids occurs when the blood repast of an animal highly parasitized is interrupted and restarted, in a period less than 10 minutes, in another healthy animal (Otte and Abuabara, 1991). Probably, an important factor for the occurrence of the disease in hair sheep is the characteristic of their coat, which can be suckled by tabanids in the whole body surface. By the contrary the body surface of woolled sheep is protected.

One factor that may have contributed to the spread of *T. vivax* among the flock was the use of the same needle for different sheep for the administration of various drugs in the initial phase of the disease. A similar situation occurred in an outbreak of trypanosomiasis by *T. evansi* in horses in Rio Grande do Sul (Rodrigues et al., 2005). The transmission of trypanosomes between mammalian may be iatrogenic through the use of needles or instruments contaminated with infected blood during the collective vaccination or treatment of herds (Hoare, 1972; Jones and Dávila, 2001).

Despite the high frequency of the disease *T. vivax* was detected by PCR in some healthy sheep and also in unaffected cattle and buffalo, demonstrated the occurrence of unapparent cases, which probably occur due to individual resistance or low infective dose.

Some sheep were found dead, but most had weight loss, anemia, apathy, submandibular edema, abortion and high mortality. Clinical signs of anemia and weight loss were similar to those reported by other authors in natural and experimental infections in sheep (Losos and Ikede, 1972; Dávila and Silva, 2000; Batista et al., 2006, 2009). However, nervous signs and inflammatory and degenerative lesions of the CNS observed in this outbreak had not been previously reported in outbreaks of trypanosomiasis in sheep. Such lesions are similar to those reported in cattle infected by *T. vivax* (Batista et al., 2007, 2008). Inflammatory lesions were severe in Sheep 3, mild in Sheep 2, and absent in Sheep 1. In Sheep 3 that did not recovered after treatment nervous signs were due to severe lesions in the CNS, and the failure in treatment should be due to the presence of trypanosomes within the nervous tissue where the parasites are protected from trypanosomicide drugs (Batista et al., 2007). Some sheep showed transient neurologic signs during movement when the flock was inspected, which can be due to cerebral hypoxia due to severe anemia. Neurological clinical manifestations without the presence of microscopic lesions of the brain were reported in goats and sheep experimentally infected (Losos and Ikede, 1972; Whitelaw et al., 1988) and

recently, in addition to neurological signs, inflammatory lesions of the central nervous system were observed in sheep experimentally infected with a *T. vivax* strain isolated from an outbreak in cattle in the state of Paraíba (Almeida et al., 2010).

Laboratory findings, characterized by decrease in erythrocyte count, hematocrit, and hemoglobin concentrations are similar to those observed in experimentally infected sheep (Batista et al., 2006). Anemia caused by *T. vivax* is considered multifactorial and is attributed to intravascular and extravascular hemolysis, decrease or inhibition of erythropoiesis, and bleeding (Holmes, 1987).

The absence of significant gross lesions, except for the severe anemia, observed in this outbreak is common in infection by *T. vivax* (Losos and Ikede, 1972; Batista et al., 2007). The histological changes characterized by inflammatory infiltrate mononuclear and fibrosis in the heart, hyperplasia of white pulp of the spleen and inflammatory infiltrates in the liver are similar to those reported by other authors (Saror, 1980; Batista et al., 2006). Histological changes of inflammation and malacia of the white substance in the central nervous system, are similar to those observed in cattle infected with *T. vivax* (Batista et al., 2007), horses infected by *T. evansi* (Rodrigues et al., 2005) and humans infected with *T. brucei* and *T. cruzi* (Poltera et al., 1977, Antunes et al., 2002). This is the first description of CNS lesions in spontaneous infection with *T. vivax* in sheep. Also in cattle, these lesions had been reported in a single outbreak (Batista et al., 2007), however, it is likely that the scarcity of descriptions of CNS lesions in *T. vivax* infections is due to the few necropsies performed in outbreaks of trypanosomiasis. In most cases the diagnosis is made only by the presence of parasites in the bloodstream.

In this outbreak the control of the disease by treatment of clinical cases was efficient. This fact proves to be unnecessary the treatment of the all flock that can induce resistance to trypanosomicide drugs. In areas where there is not cyclical transmission of *T. vivax* by tsetse

flies and occurs mechanically transmission, the control and treatment methods are relatively simple, once early treatment of clinical cases causes a rapid interruption in the mechanic transmission (Stephen, 1986; Batista et al., 2007).

In conclusion, trypanosomiasis by *T. vivax* in sheep is a disease of rare occurrence in the Brazilian semiarid region, causing anemia, weight loss, abortion and neurological signs, with high mortality rate if not treated. Trypanosomiasis in sheep should be considered as a differential diagnosis of diseases that cause anemia (such as gastrointestinal parasites), abortion (caused by infectious cause or ingestion of toxic plants) and neurological signs (such as rabies and listeriosis). The disease can be controlled by treatment with diminazene aceturate and the diagnosis should be made based on epidemiological data, clinical signs, hemogram, blood smears and histopathology.

References

- Almeida, K.S., Freitas, F.L.C., Tebaldi, J.H., Alessi, A.C., Machado, R.Z., Nascimento, A.A., 2010. Alterações clínicas, histopatológicas e enzimáticas em ovinos infectados experimentalmente por *Trypanosoma vivax*. *Ci. Anim. Bras.*11(3):669-676.
- Anosa, V.O., 1983. Diseases produced by *Trypanosoma vivax* in ruminants, horses and rodents. *Vet. Med.* 30, 717-741.
- Antunes, A.C.M., Cecchini, F.M.L., Bolli, F.V.B., Oliveira, P.P., Rebouças, R.G., Monte, T.L., Fricke, D., 2002. Cerebral Trypanosomiasis and AIDS. *Arq. Neuropsiquiatr.* 60, 730-733.
- Applewhaite, L.M., 1990. Small ruminant trypanosomiasis in Guyana: A preliminary report. *Brit. Vet. J.* 146, 93-94.
- Batista, J.S., Riet-Correa, F., Barbosa, R.C., Guerra, J.L., 2006. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26, 31-37.

- Batista, J.S., Riet-Correa, F., Teixeira, M.M.G., Madruga, C.R., Simões, S.V.D., Maia, F., 2007. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Vet. Parasitol.* 143, 174-181.
- Batista, J.S., Bezerra, F.S., Lira, R.A., Carvalho, J.R.G., Neto, A.M.R., Petri, A.A., Teixeira, M.M.G., 2008. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 28, 63-69.
- Batista, J.S., Oliveira, A.F., Rodrigues, C.M.F., Damasceno, C.A.R., Oliveira, I.R.S., Alves, H.M., Paiva, E.S., Brito, P.D., Medeiros, J.M.F., Rodrigues, A.C., Texeira, M.M.G., 2009. Infection by *Trypanosoma vivax* in goats and sheep in the Brazilian semiarid region: From acute disease outbreak to chronic cryptic infection. *Vet. Parasitol.* 165, 131-135.
- Costa, V.M.M., Simões, S.V.D., Riet-Correa, F., 2009. Doenças parasitárias em ruminantes no semi-árido brasileiro. *Pesq. Vet. Bras.* 29(7):563-568.
- Dávila, A.M.R., Silva, R.A.M.S., 2000. Animal trypanosomiasis in South America. current status, partnership, and information technology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 916, 199-212.
- Desquesnes, M.T., Gardiner, P.R., 1993. Epidemiologie de la trypanosomes bovine (*Trypanosoma vivax*) en Guayane Française. *Rev. Elevage Med. Vét. Pays Trop.* 46, 463-470.
- Garcia, H., Garcia, M.E., Perez, G., Bethancourt, A., Zerpa, E., Perez, H., Leon, A.M., 2006. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 100, 297-305.

- Gardiner, P.R., Assoku, R.K.G., Whitelaw, D.D., Murray, M., 1989. Haemorrhagic lesion resulting from *Trypanosoma vivax* infection in Ayrshire cattle. *Vet. Parasitol.* 31, 187-198.
- Hoare, C.A., 1972. The trypanosomes of mammals: a zoological monograph. Oxford: Blackwell, 749 p.
- Holmes, P.H., 1987. Pathophysiology of parasitic infections. *Parasitol.* 94, 529-551.
- Jones, T., Dávila, A.M.R., 2001. *Trypanosoma vivax* out of Africa. *Trends in Parasitol.* 17, 99-101.
- Jordan, A.M., 1986. Trypanosomiasis control and African rural development. 1st ed. Logman, New York. 325p.
- Leger, M., Vienne, M., 1919. Epizootie a *trypanosomes* chez lês bovines de la Guayane Francais. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 12, 216-258.
- Losos, G.J., Ikede, B.O., 1972. Review of pathology of diseases in domestic and laboratory animals caused by *T. congolense*, *T. vivax*, *T. brucei*, *T. rhodensiense* and *T. congolense*. *Vet. Pathol.* 9, 267-274.
- Otte, M.J., Abuabara, J.Y., 1991. Transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. *Acta Trop.* 49, 73-76.
- Otte, M.J., Abuabara, J.Y., Wells, E.A., 1994. *Trypanosoma vivax* in Colombia: epidemiology and production losses. *Trop. Anim. Health Prod.* 26, 146-156.
- Paiva, F., Lemos, R.A.A., Nakato, L., Mori, A.E., Brum, K.B., Bernardo, K.C., 2000. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 9, 135-141.

- Poltera, A.A., Owor, R., Cox, J.N., 1977. Pathological aspects of human African trypanosomiasis (HAT) in Ungada: a post-mortem survey of fourteen cases. *Virchows Arch.: Pathol. Anat. Histol.* 373, 249-265.
- Rodrigues, A., Figuera, R.A., Souza, T.M., Schild, A.L., Soares, M.P., Milano, J., Barros, C.S.L., 2005. Surtos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em eqüinos no Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. *Pesq. Vet. Bras.* 25, 239-249.
- Saror, D.I., 1980. Observation on the course and pathology of *Trypanosoma vivax* in Red Sokoto goats. *Veterinary Science* 28, 36-38.
- Shaw, J.J., Lainson, R., 1972. *Trypanosoma vivax* in Brazil. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 66, 25-32.
- Silva, R.A.M.S., Silva, J.A., Schneider, R.C., Freitas, J., Mesquita, D., Mesquita, T., Ramirez, L., Dávila, A.M.R., Pereira, M.E.B., 1996. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 91, 561-562.
- Silva, R.A.M.S., Ramirez, L., Souza, S.S., Ortiz, A.G., Pereira, S.R., Dávila, A.M.R., 1999. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian Wetlands. *Vet. Parasitol.* 85, 87-93.
- Smith, B.P., 2006. *Medicina interna de grandes animais*. 3.ed. Manole, São Paulo, 1728p.
- Stephen, L.E., 1986. *Trypanosomiasis: a veterinary perspective*. 1st ed. Pergamon Press, New York. 533p.
- Ventura, R.M., Paiva, F., Silva, R.A.M.S., Takeda, G.F., Buck, G.A., Teixeira, M.M.G., 2001. *Trypanosoma vivax*: characterization of the spliced-leader gene for a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic space sequence. *Exp. Parasitol.* 99, 37-48.

- Wells, E.A., Bethancourt, A., Ramirez, L.E., 1982. *Trypanosoma vivax* in Colombia: Epidemiology and economic impact. *World Animal Review* 43, 17-23.
- Whitelaw, D.D., Gardiner, P.R., Murray, M., 1988. Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. *Parasitology* 97, 51-61.

Legend of Figures

Fig. 1. Rainfalls during 2008 and from 1996 to 2008 in São João do Rio do Peixe, Paraíba

Fig. 2. Sheep showing marked weight loss, rough hair coat, hypotrichosis and crusts on the skin.

Fig. 3. Sheep showing neurologic manifestations including head pressing (A) and fall (B).

Fig. 4. Blood smears containing numerous parasites identified as *T. vivax*. Quick Panoptic, 400x.

Fig. 5. Heart of sheep showing multifocal areas of moderate lymphocytic infiltrate among the bundles of muscle fibers associated with areas of fibrosis. HE, A 100x and B 400x.

Fig. 6. Brain of a sheep showing marked lymphocytic infiltrate around vessels and malacia of the white substance (A- HE, 100x), and vasculitis with up to eight layers of mononuclear cells and presence of rare Mott cells (arrows) HE, 400x.

Guide for Authors

An international scientific journal and the Official Organ of the American Association of Veterinary Parasitologists (AAVP), the European Veterinary Parasitology College (EVPC) and the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP).

Veterinary Parasitology

Types of contributions

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Rapid Communications
4. Short Communications
5. Letters to the Editor
6. Book Reviews

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited.

Rapid Communications should contain information of high 'news'/scientific value worthy of very rapid publication. Rapid Communications should be submitted to the journal as such (i.e. clearly labelled as a RC) and should, in general, not exceed 2000 words in length. Upon receipt, they will be subject to rapid assessment and if accepted, published with priority.

Short Communications should consist of original observations or new methods within the scope of the journal. Reports of observations previously published from different geographical areas may be accepted only if considered sufficiently unusual or noteworthy.

The Communications should be concise with the minimum of references, and cover no more than four pages of the journal; they need not be formally structured as are full papers, but should give sufficient methods and data necessary for their comprehension.

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors-in-Chief. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old and were written in English.

Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Book Review Editor:

Dr F.H.M. Borgsteede
Animal Sciences Group, Wageningen UR
Division Infectious Diseases
Laboratory of Parasitic Diseases
P.O. Box 65
8200 AB Lelystad
The Netherlands

Submission of manuscripts

Submission to *Veterinary Parasitology* now proceeds online via Elsevier Editorial System - <http://ees.elsevier.com/vetpar>. Authors will be guided step-by-step through uploading files directly from their computers. Authors should select a set of classifications for their papers from a given list, as well as a category designation (Original Research Paper, Short Communication, and so on). Electronic PDF proofs will be automatically generated from uploaded files, and used for subsequent reviewing.

Authors are invited to suggest the names of up to 5 referees (with email addresses) whom they feel are qualified to evaluate their submission. Submission of such names does not, however, imply that they will definitely be used as referees.

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Authors submitting hard copy papers will be asked to resubmit using Elsevier Editorial System.

Submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by

the journal, the author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher. This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Conflict of interest

At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

Role of the funding source

All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Ethics

Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for the International Organizations of Medical Sciences. They are obtainable from: Executive Secretary C.I.O.M.S., c/o WHO, Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland, or at the

following URL: http://www.cioms.ch/frame_1985_texts_of_guidelines.htm. Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of *Veterinary Parasitology*.

Preparation of manuscripts

1. Manuscripts should be written in English. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission.

Language Editing: [Elsevier's Authors Home](#) provides details of some companies who can provide English language and copyediting services to authors who need assistance *before* they submit their article or *before* it is accepted for publication. Authors should contact these services directly. Authors should also be aware that *The Lucidus Consultancy* edit@lucidusconsultancy.com offers a bespoke service to putative contributors to *Veterinary Parasitology* who need to arrange language improvement for their manuscripts. For more information about language editing services, please email authorsupport@elsevier.com.

Please note that Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our terms & conditions

<http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

2. Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

3. Manuscripts in general should be organized in the following order:

Title (should be clear, descriptive and not too long)

Name(s) of author(s)

Complete postal address(es) of affiliations

Full telephone, Fax No. and e-mail address of the corresponding author

Present address(es) of author(s) if applicable

Complete correspondence address including e-mail address to which the proofs should be sent

Abstract

Keywords (indexing terms), normally 3-6 items. Please refer to last index (Vol. 100/3-4).

Introduction

Material studied, area descriptions, methods, techniques

Results

Discussion

Conclusion

Acknowledgments and any additional information concerning research grants, etc.

References

Tables

Figure captions

Tables (separate file(s))

Figures (separate file(s)).

4. Titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use lower-case letter type.

5. SI units should be used.

6. Elsevier reserves the privilege of returning to the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide.

Abstracts

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal.

Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.

2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.

3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.

4. Each table should occupy a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.

5. Each table should have a brief and self-explanatory title.

6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.

7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.
8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Illustrations

1. All illustrations (line drawings and photographs) should be submitted as separate files, preferably in TIFF or EPS format.
2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration.
3. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.
4. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible. Any lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.
5. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.
6. Each illustration should have a caption. The captions to all illustrations should be typed on a separate sheet of the manuscript.
7. Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the illustrations should be kept to a minimum.
8. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity.
9. If you submit usable colour figures, Elsevier would ensure that these figures appeared free-of-charge in colour in the electronic version of your accepted paper, regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. Colour illustrations can only be included in print if the additional cost of reproduction is contributed by the author: you would receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.

Please note that because of technical complications which may arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version, should you not opt for colour in print), you should submit in addition usable black and white figures corresponding to all colour illustrations.

10. Advice on the preparation of illustrations can be found at the following URL:

☞ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

Preparation of supplementary data

Elsevier now accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published free of charge online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data are provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

References

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.
2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed – if necessary – by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12–16)".
3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.
4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on author's names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates – publications of the same author with one co-author – publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1974a, 1974b, etc.
5. Use the following system for arranging your references:

- a. *For periodicals*

Lanusse, C.E., Prichard, R.K., 1993. Relationship between pharmacological properties and

clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Vet. Parasitol.* 49, 123–158.

b. *For edited symposia, special issues, etc., published in a periodical*

Weatherley, A.J., Hong, C., Harris, T.J., Smith, D.G., Hammet, N.C., 1993. Persistent efficacy of doramectin against experimental nematode infections in calves. In: Vercruysse, J. (Ed.), *Doramectin – a novel avermectin*. *Vet. Parasitol.* 49, 45–50.

c. *For books*

Blaha, T. (Ed.), 1989. *Applied Veterinary Epidemiology*. Elsevier, Amsterdam, 344 pp.

d. *For multi-author books*

Wilson, M.B., Nakane, P.K., 1978. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp, W., Holubar, K., Wick, G. (Eds.), *Immunofluorescence and Related Staining Techniques*. North Holland, Amsterdam, pp. 215–224.

6. Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references in accordance with BIOSIS Serial Sources, published annually by BIOSIS. The correct abbreviation for this journal is *Vet. Parasitol.*

7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

8. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

10. Web references may be given. As a minimum, the full URL is necessary. Any further information, such as Author names, dates, reference to a source publication and so on, should also be given.

11. Articles available online but without volume and page numbers may be referred to by means of their Digital Object identifier (DOI) code.

Formulae

1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.

2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.

3. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

4. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often

more conveniently denoted by exp.

5. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca^{2+} , not as Ca^{++} .

6. Isotope numbers should precede the symbols e.g. ^{18}O .

7. The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P_2O_5).

Footnotes

1. Footnotes should only be used if absolutely essential. In most cases it should be possible to incorporate the information into the normal text.

2. If used, they should be numbered in the text, indicated by superscript numbers, and kept as short as possible.

Nomenclature

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.

2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

4. For chemical nomenclature, the conventions of the *International Union of Pure and Applied Chemistry* and the official recommendations of the *IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature* should be followed.

5. For the denomination of parasitic diseases or infections, authors are requested to follow the Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPAD) published in 1988 in *Veterinary Parasitology* (Kassai, T. et al., 1988. *Vet. Parasitol.* 29, 299–326).

Copyright

If excerpts from other copyrighted works are included, the Author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has

preprinted forms for use by Authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Oxford, UK: phone (+1) 215 239 3804 or +44(0)1865 843830, fax +44(0)1865 853333, e-mail healthpermissions@elsevier.com. Requests may also be completed online via the Elsevier homepage ⇨ <http://www.elsevier.com/permissions>.

Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.

Authors Rights

As an author you (or your employer or institution) may do the following:

- make copies (print or electronic) of the article for your own personal use, including for your own classroom teaching use
- make copies and distribute such copies (including through e-mail) of the article to research colleagues, for the personal use by such colleagues (but not commercially or systematically, e.g., via an e-mail list or list server)
- post a pre-print version of the article on Internet websites including electronic pre-print servers, and to retain indefinitely such version on such servers or sites
- post a revised personal version of the final text of the article (to reflect changes made in the peer review and editing process) on your personal or institutional website or server, with a link to the journal homepage (on elsevier.com)
- present the article at a meeting or conference and to distribute copies of the article to the delegates attending such a meeting
- for your employer, if the article is a 'work for hire', made within the scope of your employment, your employer may use all or part of the information in the article for other intra-company use (e.g., training)
- retain patent and trademark rights and rights to any processes or procedure described in the article
- include the article in full or in part in a thesis or dissertation (provided that this is not to be published commercially)
- use the article or any part thereof in a printed compilation of your works, such as collected writings or lecture notes (subsequent to publication of your article in the journal)
- prepare other derivative works, to extend the article into book-length form, or to otherwise re-use portions or excerpts in other works, with full acknowledgement of its original publication in the journal

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>).

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site:

<http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Author Services

Questions arising after acceptance of the manuscript, especially those relating to proofs, should be directed to Elsevier Ireland, Elsevier House, Brookvale Plaza, East Park, Shannon, Co. Clare, Ireland, Tel.: (+353) 61 709600, Fax: (+353) 61 709111/113, authorsupport@elsevier.com.

Authors can also keep a track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts

informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track your accepted article" option on the journal's homepage <http://www.elsevier.com/locate/vetpar> For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the Publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

***Veterinary Parasitology* has no page charges**