

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS PARA *Babesia* spp. EM BOVINOS DA REGIÃO DE
ENCRUZILHADA DO SUL, RS, BRASIL E SUA CORRELAÇÃO COM A INFECÇÃO DA
HEMOLINFA DE CARRAPATOS *Boophilus microplus*.

THANARA LOUZADA CARNEIRO DE CORREIA

PORTO ALEGRE

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS PARA *Babesia* spp. EM BOVINOS DA REGIÃO DE ENCRUZILHADA DO SUL, RS, BRASIL E SUA CORRELAÇÃO COM A INFECÇÃO DA HEMOLINFA DE CARRAPATOS *Boophilus microplus*.

THANARA LOUZADA CARNEIRO DE CORREIA

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Doenças Parasitárias.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Antônio Pacheco de Araujo

PORTO ALEGRE

2006

APROVADO POR:

PROF. DRA. MARY JANE TWEEDIE GOMES
Membro da banca

PROF. DRA. NARA AMÉLIA DA ROSA FARIAS
Membro da banca

PROF. DRA. NEUSA SALTIEL STOBBE.
Membro da banca

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as oportunidades de a cada dia me tornar uma pessoa mais capacitada na profissão que escolhi e por ter saúde e garra para isso.

A minha família, em especial minha mãe, pelo incentivo, compreensão, amor e certeza que eu estaria no caminho certo enfrentado mais esta etapa.

Á todos colegas do laboratório de Protozoologia da UFRGS pelos ensinamentos, dicas e carinho dados ao longo destes anos.

Ao Prof. Dr. Flávio Araujo, meu orientador, por ter acreditado na minha vontade de tornar mestre e pela dedicação destinada a mim.

Ao Dr. João Ricardo Martins pela colaboração e por ter aberto as portas do IPVDF para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos que me acompanharam ao longo desta etapa, sempre me apoiando e dividindo comigo ótimos momentos.

Ao meu namorado Bruno Pacheco, pelo amor, compreensão, apoio e companhia prestados ao longo deste ano.

Ao colega e amigo Maurício Tietzmann pela grande ajuda nas coletas em Encruzilhada do Sul.

Aos meus cães Pathy e Boeing por fazerem dos meus dias os melhores possíveis.

E, para finalizar, a todos médicos veterinários que fazem da parasitologia uma grande paixão

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	07
LISTA DE FIGURAS	08
RESUMO	09
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. Objetivos	13
2.1. Gerais	13
2.2. Específicos	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1. Etiologia	14
3.2. Sistemática	14
3.3. Morfologia e Ciclo evolutivo	15
3.4. Transmissão	17
3.5. Distribuição Geográfica	18
3.6. Sinais Clínicos	21
3.6.1. <i>B.bovis</i>	21
3.6.2. <i>B.bigemina</i>	23
3.7. Patogenia	24
3.8. Diagnóstico	25
3.9. Diagnóstico Diferencial	28
3.10. Tratamento	29
3.11. Controle Profilaxia	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1. Amostra de Soros Bovinos	34
4.1.1. Técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI)	34
4.2. Amostras de teleóginas de <i>B.microplus</i>	35
4.2.2. Exame de hemolinfa	35
4.3. Análise e estatística	35
5. RESULTADOS	36

5.1 Imunofluorescência Indireta (IFI)	36
5.2. Esfregaço de hemolinfa das teleóginas	39
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Resultados da sorologia de acordo com a propriedade	38
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Teleóginas ingurgitadas de <i>B. microplus</i>	18
Figura 2 - Cérebro bovino congesto infectado por <i>B. bovis</i> .	23
Figura 3 - Bexiga repleta de urina com forte hemoglobinúria.	23
Figura 4 - Esfregaço de sangue positivo para <i>B. bigemina</i> .	25
Figura 5 - Capilar cerebral positivo para <i>B. bovis</i> .	26
Figura 6 - Reação de Imunofluorescência positiva para <i>B. bovis</i> .	36
Figura 7 - Reação de Imunofluorescência positiva para <i>B. bigemina</i>	37
Figura 8 - Reação negativa de Imunofluorescência para babesiose bovina.	37

RESUMO

Foi determinada a frequência de anticorpos para *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos de 6-11 meses em 6 propriedades rurais da região de Encruzilhada do Sul, RS, Brasil e sua correlação com a infecção da hemolinfa de teleóginas de *Boophilus microplus*. A pesquisa dos anticorpos foi realizada através da técnica de Imunofluorescência Indireta e o exame nas teleóginas através de esfregaço de hemolinfa corado com Giemsa. Ambas técnicas foram efetuadas no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF). Das 379 amostras de soros bovinos, 179 (47,23%) foram positivas para *B. bovis* e/ou *B. bigemina*. O trabalho foi realizado num total de 6 propriedades de Encruzilhada do Sul, entre as quais a propriedade 5 obteve mais animais positivos, enquanto que a propriedade 1 obteve o maior número de animais negativos. Nos esfregaços de hemolinfa nenhum resultado positivo foi encontrado, assim sendo, não houve correlação entre a sorologia e a infecção da hemolinfa das teleóginas por vermiculos de *Babesia* spp. Na análise estatística, comparou-se os resultados obtidos nas diferentes propriedades. Com base nestes resultados, pode-se concluir que a frequência de anticorpos para *Babesia* spp detectada neste trabalho foi de 47,23%, ficando abaixo do índice que caracteriza uma zona de instabilidade enzoótica para Tristeza Parasitária Bovina (TPB).

Palavras – chave: bovinos, sorologia, carrapatos, hemolinfa, *Boophilus microplus*.

ABSTRACT

Was determined the frequency of antibodies for *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle between 6-11 months of age in six farms of Encruzilhada do Sul, RS, Brazil and its correlation with the female ticks *Boophilus microplus* hemolymph infection. All laboratory techniques were done at Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF). From the 379 cattle analysed samples, 179 (47,23%) were positive for *B. bovis* and/or *B. bigemina*. In hemolymph tests, all samples were negative. Based on those results, did not have any correlation between sorologic results and hemolymph infection and the frequency of antibodies for *Babesia* spp. detected at this work was 47,23%, characterizing a instability zone for Tristeza Parasitária Bovina (TPB).

Key words: cattle, sorologic results, ticks, hemolymph, *Boophilus microplus*.

1. Introdução:

A babesiose bovina é uma doença de relevante importância, transmitida por carrapatos, especialmente em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. As duas espécies mais importantes economicamente que atingem os bovinos são *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*. Uma terceira espécie, conhecida como *Babesia divergens* também é causa de grandes perdas, porém é mais significativa em certas partes do continente europeu (De Wall e Combrink, 2006).

As espécies do gênero *Babesia* infectam uma grande variedade de animais domésticos e selvagens, sendo responsáveis por grandes danos à economia mundial (Yokoyama *et al.*, 2006). Os protozoários do gênero *Babesia* também podem parasitar os seres humanos (Acha e Szyfres, 1977).

O parasitismo por *Babesia* spp. em bovinos integra uma síndrome denominada de Tristeza Parasitária Bovina (TPB), doença conhecida desde o final do século XIX, quando ainda era enfocada como entidade única e não como um complexo. Além da *Babesia* spp., integra a TPB uma bactéria denominada *Anaplasma marginale* (Sequeira e Amarante, 2002; Intervet, 2006).

Mundialmente a TPB está associada à presença de carrapatos, porém em alguns países como o Brasil, existem regiões em que os carrapatos não encontram condições de desenvolvimento e sobrevivência (Intervet, 2006).

A babesiose e a anaplasmose causam grandes prejuízos à pecuária da América Latina, devido à mortalidade dos animais, e, sobretudo à queda da produção de carne e leite, abortos e redução de fertilidade (Farias, 1995).

Os prejuízos específicos causados pelos agentes da TPB são difíceis de calcular, pois revelam-se não só pela morbidade e mortalidade, mas também pelas seqüelas c 12 impedem o desenvolvimento normal dos animais e diminuem sua resistência natural, condicionando-os a contrair outras doenças, diminuindo conseqüentemente os índices de produtividade dos rebanhos (Arteche, 1992).

Nos Países Latinos, estima-se que o complexo TPB cause um prejuízo de 266 milhões de dólares/ano. No Brasil, em 1985, o Ministério da Agricultura estimou a perda por carrapatos e as doenças transmitidas por eles em mais de 1 bilhão de dólares (Intervet, 2006).

No Brasil, a TPB é considerada endêmica na maior parte do território, sendo conhecida por vários nomes, como pindura, mal da ponta, piroplasmose, mal triste, entre outros (Júnior, 2005).

Na América Latina, o único vetor conhecido como transmissor da babesiose para bovinos é o carrapato *Boophilus microplus*, Canestrini, 1887 (Oliveira *et al.*, 2005). O carrapato *B. microplus* é encontrado em climas quentes e úmidos como a América Central, América do Sul, África, Austrália, Oriente, etc... (Ticks of Veterinary Importance).

O presente trabalho teve como enfoque contribuir para os dados de frequência desta hemoparasitose em Encruzilhada do Sul, município do Estado do Rio Grande do Sul,

onde os dados sobre ela são muito escassos, através de diagnóstico laboratorial sorológico em amostras de sangue de bovinos e da pesquisa de hemolinfa das teleóginas de *B. microplus*.

2. Objetivos

2.1. Gerais:

◆ Contribuir para o conhecimento da epidemiologia da babesiose bovina na região de Encruzilhada do Sul, através da avaliação sorológica de terneiros.

2.2. Específicos:

◆ Quantificar a frequência da infecção por *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bovinos do município de Encruzilhada do Sul, RS, Brasil;

◆ Quantificar a taxa de infecção por *Babesia* spp. em teleóginas coletadas da mesma amostragem do item anterior;

◆ Correlacionar a frequência de anticorpos para *Babesia* spp. com a taxa de infecção das teleóginas.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Etiologia:

O protozoário *Babesia* spp., segundo Mahoney (1977), foi observado pela primeira vez por Babes, em 1888, na Romênia, no sangue de bovinos com hemoglobinúria, que classificou como sendo o gênero *Haematococcus*. Em 1893, Smith e Kilborne demonstraram a transmissão da *Babesia bigemina* pelo carrapato, a qual era a causadora da “Febre do Texas”, uma doença aguda febril do gado que ocorria nos Estados Unidos. O descobrimento da transmissão da *Babesia* spp. por carrapatos foi muito importante, pois foi o primeiro protozoário patogênico conhecido transmitido por um vetor artrópode (Soulsby, 1968; Mahoney, 1977;). O envolvimento de um artrópode na transmissão de doenças introduziu um novo conceito na epidemiologia e foi o que permitiu mecanismos para o controle eficaz tanto em animais quanto em humanos (Levine, 1985).

Em 1893, Starcovici propôs o gênero *Babesia* que inclui várias espécies, sendo que em 1930 a *Babesia* spp. já havia sido descrita em várias espécies domésticas, com uma distribuição mundial e tendo o carrapato como único vetor. (Mahoney, 1977). No Brasil, Fajardo, em 1901, verificou pela primeira vez a presença de *Babesia* spp. ao examinar sangue de bovinos recentemente importados (Bellato, 1985).

3.2. Sistemática:

Segundo Levine (1985), o gênero *Babesia* tem a seguinte classificação:

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoasida

Ordem: Eucoccidiorida

Sub-ordem: Haemosporina

Família: Babesiidae

Gênero: *Babesia*

Atualmente são conhecidas 71 espécies sendo que 18 causam doença em mamíferos domésticos (Ozaki, 1996).

3.3. Morfologia e Ciclo Evolutivo:

Os parasitos do gênero *Babesia* são protozoários cujos trofozoítos apresentam formato piriforme e ocorrem geralmente aos pares no citoplasma das hemácias de seus hospedeiros vertebrados (Sequeira e Amarante, 2002).

Em condições naturais, a *Babesia* spp. é transmitida por carrapatos, nos quais a infecção transovariana assegura a transmissão por estágios para geração seguinte de carrapatos, podendo ser pelo estágio de larva, ninfa ou adulto. (Urquhart *et al.*, 1998). A transmissão transovariana deste protozoário em bovinos, no Brasil, se deve ao fato de que o *B. microplus* é um carrapato de um único hospedeiro (Sequeira e Amarante, 2002). A capacidade de transmissão transovariana do agente permite a sua perpetuação, tornando o carrapato infectante por várias gerações (Taboada, 1998).

As babesias são parasitos heteroxenos, isto é, evoluem e multiplicam-se em dois hospedeiros: um vertebrado (bovino) e um invertebrado (carrapato), (Farias, 1995).

A infecção do hospedeiro vertebrado se dá pela inoculação de esporozoítos juntamente com a saliva do carrapato, durante o repasto sanguíneo. Os esporozoítos penetram nas hemácias, arredondam-se e se transformam em trofozoítos. Estes se dividem assexuadamente no interior das hemácias, provocando a ruptura das mesmas para saírem. Este processo de divisão continua até que o organismo controle a infecção ou que ocorra a morte do hospedeiro (Sequeira e Amarante, 2002).

O carrapato se infecta ao ingerir hemácias parasitadas. Após a ingestão de hemácias parasitadas, estas são digeridas, liberando os merozoítos na luz intestinal da teleógina. No conteúdo intestinal e em células epiteliais da parede, surgem os chamados corpos estrelados, que podem ser maiores e imóveis (correspondendo ao gameta feminino), ou menores e móveis (gameta masculino). Posteriormente, são encontradas formas esféricas no interior das células da parede intestinal chamadas oocinetos, provavelmente originados da fusão dos gametas. O oocineto evolui, sofre divisões nucleares seguidas de divisões citoplasmáticas (esquizogonia), rompe a célula hospedeira e libera formas em bastão, chamadas vermículos. Os vermículos penetram em outra célula intestinal para sofrer nova esquizogonia, ou são liberados no líquido circulatório do carrapato, a hemolinfa. Sofrem novas divisões nas células circulatórias e em diversos órgãos, inclusive nos ovários da teleógina. Penetram nos óvulos e se multiplicam, ocorrendo a transmissão transovariana, ou seja, os ovos postos por esta teleógina já estarão infectados por *Babesia* spp (Farias, 1995).

Na larva infectada que eclode desse ovo, a *Babesia* spp. multiplica-se nas células do sistema digestivo, migrando finalmente para as glândulas salivares, onde sofre nova multiplicação dando origem as formas infectantes (esporozoítos) (Farias, 1995).

A *B. bovis* é inoculada apenas pelas larvas do carrapato (Mahoney e Mirre, 1974). Por outro lado, *B. bigemina* só é inoculada nos bovinos pelas ninfas e adultos do carrapato (Callow e Hoyte, 1961).

Devido à grande multiplicação de *Babesia* spp. nos tecidos do carrapato, pode ocorrer redução da capacidade de ovopostura e até morte de teleóginas ingurgitadas em bovinos com alta parasitemia, pela destruição que a *Babesia* spp. provoca no interior das mesmas (Farias, 1994).

3.4. Transmissão:

No Brasil, a transmissão da babesiose bovina se dá através do carrapato *Boophilus microplus*.

Em seu ciclo evolutivo, o *B. microplus* passa por uma fase de vida livre (no solo, em meio a vegetação) e outra de vida parasitária, sobre o bovino. Durante a fase de vida livre o carrapato não se alimenta, vivendo de reservas energéticas adquiridas durante a fase parasitária. Na fase de vida parasitária, as larvas infestantes passam do capim para o bovino e tendem a se fixar nas regiões de pele mais fina, como períneo, base da cauda, entrepernas, virilha, úbere, escroto e interior da orelha, iniciando sua alimentação, que nos primeiros dias é composta de linfa, passando a ser sangue somente quando passam ao estágio de ninfa (Farias, 1995).

Segundo Gonzales (2003), o gênero *Boophilus*, Curtice, 1891, compreende outras espécies, além de *B. microplus*:

- *B. annulatus* (Say, 1821), carrapato que ocorre na América do Norte (EUA e México) e, presuvelmente, antes de infestar o bovino foi parasito de veados e búfalos. Esta espécie também é responsável pela transmissão *B. bigemina* e *B. bovis* (Howard, *et al.*, 2006).
- *B. decoloratus* (Koch, 1844), essencialmente uma espécie africana, distribuindo-se pelo sul e pelas regiões úmidas do Saara, sendo responsável pela transmissão de *B. bigemina* nestas regiões (Howard *et al.*, 2006).

Além desta transmissão direta pelo vetor, existem outras maneiras de infecção como transfusões sangüíneas.

A figura 1 demonstra teleóginas ingurgitadas de *B. microplus*.



Figura 1- Teleóginas ingurgitadas de *B. microplus*

3.5. Distribuição geográfica:

A distribuição geográfica da doença acompanha a presença ou não do carrapato vetor. Sendo assim, existem áreas livres, onde o carrapato não ocorre, devido às condições ambientais que não permitem completar o seu ciclo biológico, incluindo o extremo sul do Brasil e Argentina, ou por ter sido erradicado, como nos Estados Unidos. As áreas de instabilidade enzoótica, são aquelas próximas aos paralelos 32°N e 32°S, onde os bovinos passam um período do ano sem contato com o carrapato (estação fria), havendo uma oscilação no seu nível de anticorpos. Com isso, os baixos níveis imunológicos, muitas vezes são incapazes de proteger o rebanho, frente ao inóculo feito pela população de carrapatos, durante as estações mais quentes, levando aos surtos de Tristeza Parasitária (Farias, 1995).

A babesiose é um problema mais acentuado em regiões marginais ou de instabilidade enzoótica, onde as condições climáticas são desfavoráveis a manutenção das populações de carrapato por longos períodos. Deste modo, parte da população de

bovinos não se infecta com *Babesia* spp. nos primeiros meses de vida e, conseqüentemente não desenvolve uma imunidade ativa antes que ocorra o desaparecimento dos anticorpos colostrais. Surtos de babesiose podem ser observados após a introdução de animais nativos destas regiões em áreas enzoóticas, ou mesmo quando ocorrem mudanças climáticas temporárias nas zonas de instabilidade enzoótica, que permitem o estabelecimento e desenvolvimento de carrapatos. Em áreas com estas características, a babesiose costuma ser aguda e com altas taxas de mortalidade, razão pela qual a vacinação é recomendável (Embrapa, 2006).

As áreas de estabilidade enzoótica são favoráveis ao desenvolvimento do vetor, onde a maior parte dos bovinos é resistente à TPB, em virtude de ter desenvolvido a imunidade nos primeiros meses de vida, ao sofrer uma infecção pelos agentes quando protegida pelos anticorpos colostrais. Neste caso, os prejuízos causados pelo carrapato em si são mais importantes que os causados pelos agentes que transmite (Arteche, 1992).

A babesiose bovina foi um problema sério no sul dos Estados Unidos antes da erradicação, deixando de existir em 1943, sendo atualmente considerada uma doença exótica no país. Hoje em dia, uma estreita faixa (zona tampão) ao longo do Rio Grande, que faz fronteira com o México (onde há babesiose), e os Estados Unidos, é monitorada por uma força do USDA, conhecida como “tick riders” – vaqueiros que capturam e tratam para carrapatos o gado que anda pelas encostas do rio no lado americano. Embora, esse programa custe caro para ser mantido, ele é considerado um bom seguro contra a enfermidade. A reentrada da babesiose no Texas poderia custar o valor estimado de 1,5 bilhões de dólares por ano em custos de quarentena e erradicação (United States Animal Health Association, 1992).

Em estudo realizado por Martins *et al.* (1994), no município de Santana do Livramento, RS, Brasil, 90% dos produtores relataram que a Tristeza Parasitária era um problema em suas propriedades, principalmente em animais maiores de 12 meses de idade.

Em 1995, Artiles *et al.* (1995), em estudo epidemiológico na região de Bagé, RS, Brasil, encontrou 74% de bovinos positivos para *B. bovis* e 87% para *B. bigemina*, utilizando o teste de Elisa e Imunofluorescência indireta respectivamente.

Madruga, *et al.*, 2000, avaliaram a prevalência de anticorpos contra *B. bovis* e *B. bigemina* em 218 soros bovinos, pela técnica de Imunofluorescência indireta, em 4 municípios do estado do Rio de Janeiro, sendo que destes, 82,11% foram positivos para *B. bovis* e 94,03% para *B. bigemina*.

Em 1984, Kessler *et al.*, estudaram a prevalência de *B. bovis* em 579 bovinos nas diferentes regiões fisiográficas do Estado do Rio Grande do Sul, através de claps cerebrais. A prevalência total encontrada no Estado foi de 36,3%.

Souza *et al.*, 2000 avaliaram a prevalência de 532 amostras de soros bovinos na mesorregião Norte Fluminense, RJ, utilizando a técnica de Elisa indireto. Destes 371 (69,74%) foram positivos, demonstrando que a soroprevalência encontrada caracteriza uma área de instabilidade enzoótica, o que justifica o controle da enfermidade com o acompanhamento sorológico para identificação dos animais expostos a condição de risco.

Cunha *et al.*, 2002, observaram títulos de anticorpos de *B. bigemina* em bovinos leiteiros com idade entre 1 e 12 meses em Uberlândia, MG, pela técnica de Imunofluorescência indireta. A prevalência estimada ficou em 97,33%, indicando uma área de estabilidade enzoótica.

Em 2002, Cringoli *et al.*, relataram que em 81 propriedades estudadas no sul da Itália, 8 (9,8%) foram positivas para *B. bigemina* e nenhuma apresentou positividade para *B. bovis*.

3.6. Sinais Clínicos

As infecções por *Babesia* spp. em bovinos são caracterizadas por febre, anemia, prostração, inapetência, desidratação, hemoglobinemia, hemoglobinúria e em muitos casos, morte (Everitt *et al.*, 1986).

A doença clínica é relacionada a ciclos repetidos de invasão e multiplicação dos protozoários em eritrócitos do hospedeiro, seguidos de lise eritrocitária e invasão de outros eritrócitos (De Vos e Potgieter, 1993).

Os sinais clínicos da babesiose iniciam 2 a 3 semanas após inoculação pelo carrapato. Anorexia e atonia ruminal são observadas juntamente com o isolamento do animal do resto do rebanho. O animal fica indócil, procura permanecer deitado e à sombra, com o dorso arqueado e o pêlo arrepiado. Dispnéia e taquicardia também podem ocorrer (Haward *et al.*, 2006).

3.6.1. *B.bovis*

A *B.bovis* possui tropismo por capilares de órgãos centrais como cerebelo e meninges e órgãos viscerais como rins, baço, pulmão e coração, determinando uma patologia menos anemiante e menos icterógena, apresentando uma característica viscerotrópica aglutinante com bloqueio de vasos (Massard e Freire, 1985 *apud* Intervet, 2006).

Na infecção por *B. bovis*, a parasitemia é menor, por ser um hemoparasito de características viscerotrópicas, não se observando uma intensa hemoglobinemia, hemoglobinúria e a febre pode ser menos elevada que a ocorrida na infecção por *B. bigemina* (Intervet, 2006).

Tem sido observado que na infecção por *B.bovis* em bovinos ocorre seqüestro de eritrócitos parasitados nos capilares da substância cinzenta do encéfalo (Zlotnic, 1953; Callow e Macgavin, 1963; Rogers, 1971; Patarroyo *et al.*, 1982). Isso provoca eventos químicos e imunológicos que induzem uma manifestação clínica distinta, caracterizada por sinais neurológicos e conhecida como babesiose cerebral (Callow e Macgavin, 1963; Kessler *et al.*, 1983).

Segundo Sequeira e Amarante, (2002), nas infecções por *B.bovis*, os parasitos tendem a se acumular em capilares cerebrais provocando anóxia em diferentes áreas do cérebro, podendo produzir sintomatologia nervosa. Assim, com freqüência, casos de babesiose cerebral são confundidos com outras doenças do sistema nervoso central de bovinos, inclusive com a raiva (Barros, 2003).

Segundo Zintl *et al.*, (2005), *B. bovis* causa mortalidade em mais da metade de bovinos susceptíveis infectados. Infecções por este parasito são caracterizadas por níveis baixos de parasitemia periférica e como os eritrócitos infectados são seqüestrados pelo sistema de defesa para o endotélio capilar, os resultados são reações alérgicas, danos a órgãos, disfunção cerebral e edema pulmonar.

A babesiose cerebral em bovinos pode ser comparada com a infecção por *Plasmodium falciparum*, agente da malária em humanos. Na forma cerebral da malária falcípara também ocorre seqüestro de eritrócitos na microvasculatura do encéfalo induzindo alterações morfológicas e clínicas comparáveis às da babesiose cerebral em bovinos (Samuelson, 1999).

A figura 2 demonstra um cérebro bovino congesto infectado por *B. bovis*.

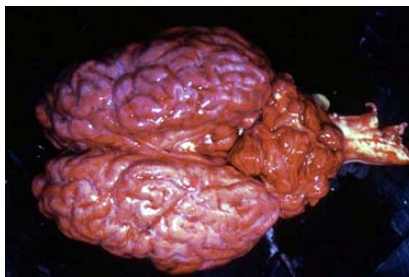


Figura 2- Cérebro bovino congesto infectado por *B. bovis*.

3.6.2. *B. bigemina*

A infecção por *B. bigemina* é marcada por uma forte hemoglobinúria, devido a massiva eritrólise intravascular e lesões glomerulares (Intervet, 2006).

A *B. bigemina* provoca uma anemia hemolítica progressiva, sendo necessários vários dias para levar o animal à morte. É a espécie menos patogênica (Farias, 1995).

A figura 3 demonstra bexiga repleta de urina com forte hemoglobinúria.



Figura 3- Bexiga repleta de urina com forte hemoglobinúria.

3.7. Patogenia

A patogenia da babesiose bovina está ligada a fatores do agente, como a espécie, cepa e inóculo (Farias, 1995).

A destruição de hemácias na babesiose ocorre: pela saída do parasito após sua divisão; nos órgãos do sistema reticulo-endotelial como baço, linfonodos e fígado, onde ocorre fagocitose do elemento estranho, destruindo as hemáceas parasitadas; pelas alterações que a membrana da hemácia sofre, tornando-se rígida e rompendo-se ao entrar em capilares; e por mecanismos imunológicos ainda não bem conhecidos, que provocam também a destruição de hemácias não parasitadas (auto-eritrofagocitose), (Farias, 1995).

As mucosas podem tornar-se pálidas ou ictéricas. O baço fica significativamente aumentado, tenro, com a polpa vermelha escuro e com corpúsculos proeminentes. O fígado fica aumentado e marrom-amarelado. O pulmão pode ficar ligeiramente edemaciado. Pode ocorrer diarreia ou constipação e as fezes ficarem amarelas, exceto em casos muito recentes ou superagudos. Os animais afetados perdem condição corporal, tornando-se emaciados e frequentemente morrem. Entretanto, os sinais da babesiose podem variar muito do quadro típico (Levine, 1985).

Nas infecções por *B. bigemina*, com a hemólise progressiva, parte da hemoglobina liberada ultrapassa o filtro renal já lesado pela anóxia e pelas toxinas. A urina torna-se avermelhada, variando a intensidade da coloração de acordo com a hemólise ocorrida (Farias, 1995).

Segundo o mesmo autor, as hemácias parasitadas por *B. bovis* concentram-se nos capilares. Os capilares cerebrais são muito sinuosos, e ficam repletos de hemácias parasitadas, incapazes, pois, de realizar as trocas gasosas. Esse fato, somado à obstrução de alguns vasos pelos trombos formados, leva, já na fase inicial da doença, à anóxia cerebral.

3.8. Diagnóstico

O histórico e a sintomatologia são suficientes para justificar a suspeita de babesiose. A confirmação do diagnóstico é feita por esfregaços sanguíneos corados com Giemsa e visualização dos parasitos no interior das hemácias. Recomenda-se que os esfregaços sanguíneos sejam feitos com sangue colhido de vasos da orelha ou da cauda para melhorar a eficiência, especialmente para a detecção de *B. bovis* (Sequeira e Amarante, 2002).

O diagnóstico através do exame direto por esfregaço sanguíneo deve ser feito durante a fase aguda da doença, que coincide com o pico de parasitemia. A morfologia do parasito e a frequência de hemáceas parasitadas presentes no esfregaço permitem o diagnóstico específico. (Farias, 1995). Segundo Haward *et al.*, (2006), para se obter os melhores resultados, os esfregaços devem ser finos e apropriadamente corados com Giemsa (solução nova, diluída e filtrada). A forma dos organismos é variável conforme a espécie de *Babesia*, podendo ser pequenos ou grandes, piriformes, arredondados ou anelares. Infecções mistas também podem ocorrer. Esfregaços finos de cérebro ou rim podem revelar numerosos organismos dentro de capilares extremamente congestionados.

As figuras 4 e 5 demonstram esfregaço de sangue positivo para *B. bigemina* e capilar cerebral positivo para *B. bovis*, respectivamente.

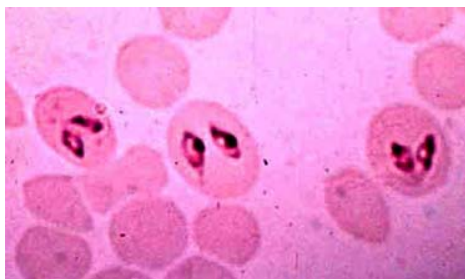


Figura 4- Esfregaço de sangue positivo para *B. bigemina*.



Figura 5- Capilar cerebral positivo para *B. bovis*.

Além do diagnóstico direto (esfregaço de sangue), existem diagnósticos laboratoriais indiretos, realizados através da pesquisa de anticorpos (sorologia). Este tipo de diagnóstico é de grande valia na fase subaguda ou crônica da doença.

Farias, (1995), afirma que esse tipo de diagnóstico é utilizado principalmente em levantamentos epidemiológicos, indicando a porcentagem de animais portadores, ou seja, o grau de proteção do rebanho. No diagnóstico de portadores de *Babesia* spp. as técnicas mais utilizadas são as de Imunofluorescência indireta e de ELISA (Enzyme-Linked Immunospecific Assay).

No teste de Imunofluorescência indireta, anticorpos (Ac) contra *Babesia* são detectados através de uma anti-imunoglobulina de bovino, conjugada com um composto fluorescente. Nas reações positivas, os parasitos de antígeno (Ag) exibem fluorescência esverdeada. O teste de ELISA é composto por um antígeno solúvel de *B. bigemina* ou *B. bovis* que é adsorvido em placa poliestireno de 96 poços. Na sequência nos poços em que foram adicionados soros positivos, os anticorpos específicos formam reações Ag-Ac. Para detectar o complexo Ag-Ac, inicialmente um segundo anticorpo é agregado na reação, a anti-imunoglobulina G bovina marcada com fosfatase alcalina e posteriormente o substrato γ - nitrofenil fosfato. A reação positiva é evidenciada pela produção de uma cor amarelada. Além destas técnicas, há o teste de Conglutinação Rápida, onde antígenos particulados de *B. bigemina* e *B. bovis*, que reagem com os anticorpos específicos do soro positivo, têm a reação amplificada pelos componentes

do fator sérico bovino, complemento e congulinina. A reação positiva é evidenciada pela formação de grumos (Embrapa, 2006).

Para o mesmo autor, todas provas sorológicas são eficientes para o diagnóstico de Ac para o organismo do gênero *Babesia*, pois todas apresentam altos níveis de sensibilidade e especificidade. A IFI é a prova mais utilizada pelos laboratórios em diversas partes do mundo. Entretanto, esta prova necessita de infraestrutura laboratorial, assim como o ELISA indireto que tem sido empregado de forma crescente nos últimos anos no diagnóstico de diversas enfermidades infecciosas. A vantagem desta última é a leitura automatizada dos resultados, o que evita uma leitura subjetiva e permite a análise de um número maior de soros. O Teste de Conglutinação Rápida (TCR) é um teste que pode ser utilizado em laboratórios carentes de infra-estrutura.

Em 2000, Madruga *et al.* estimaram a prevalência de anticorpos para *B. bovis* e *B. bigemina* em 83 soros bovinos, comparando a técnica de IFI e TCR, sendo 87,95% a positividade para *B. bovis* e 92,77% para *B. bigemina* na primeira e 85,54% para *B. bovis* e 98,79% para *B. bigemina* na segunda, indicando que a técnica de TCR é viável para estudos epidemiológicos.

Barry *et al.* (1982), descreveram a primeira utilização da técnica de ELISA para detecção de anticorpos anti - *B. bovis*, demonstrando mais de 95% de concordância com o teste de Imunofluorescência indireta em um estudo comparativo, ainda que, o primeiro mostrasse um pouco mais de sensibilidade.

O emprego de técnicas de biologia molecular, como a PCR (Reação em cadeia da polimerase), tem sido de grande auxílio na identificação de animais portadores crônicos da doença, ou ainda, na avaliação da efetividade da terapia enquanto ainda não houve diminuição dos títulos de anticorpos específicos, uma vez que, embora ainda restrito à centros de pesquisa, permite a detecção de material genético do parasito em praticamente qualquer material biológico (Brandão e Hagiwara, 2002).

O exame da hemolinfa de teleóginas de *B. microplus* tem sido utilizado em levantamentos epidemiológicos para a detecção de vermículos de *Babesia* spp. A

hemolinfa é coletada e depositada uma gota em lâmina que é corada com Giemsa para o exame microscópico. Entretanto, ainda não existe um consenso sobre o período mais adequado para a realização do exame (Brito *et al.*, 2002).

3.9. Diagnóstico diferencial

Para Haward *et al.*, (2006), o diagnóstico diferencial inclui enfermidades que também cursam com hemólise:

- Anaplasmoze: enfermidade também transmitida por carrapatos e frequentemente confundida com babesiose;
- Clostridiose por *Clostridium hemolyticum*: pode infectar o fígado após a ocorrência de algum dano local, como a migração do parasito *Fasciola hepatica*. A doença é acompanhada por hemólise com hemoglobinúria e também pode ser confundida com babesiose;
- Leptospirose: libera toxinas que causam hemólise e conseqüentemente hemoglobinúria e insuficiência hepática;
- Teileriose: causada por *Theileria* spp.;
- Hemoglobinúria pós – parto: deficiência de fósforo;

Doenças que cursam com sinais nervosos podem ser confundidas com a forma cerebral da babesiose:

- Raiva;
- Intoxicação por plantas;
- Doença hepática severa cursando com encefalopatia hepática

- Outras doenças com distúrbios neurológicos.

3.10. Tratamento

Existem dois aspectos para o tratamento: primeiramente, tratamento com droga babesicida e secundariamente terapia de suporte como transfusão sanguínea e reposição de fluidos. Estão disponíveis numerosos babesicidas no mercado. O sulfato de quinorônio é efetivo na dose de 1mL/50Kg de peso vivo, via subcutânea, porém é muito tóxico e o cuidado deve ser redobrado em bovinos muito anêmicos e/ou desidratados. Pode causar salivação excessiva e até mesmo colapso e a adrenalina é o seu antídoto (Taylor *et al.*, 1992).

Os derivados da diamidina, como o Aceturato de Diminazeno, são os babesicidas mais usados nos últimos anos, com baixa toxicidade para o bovino, e bastante eficazes contra *Babesia* spp. Comercialmente, sua apresentação é sob a forma de soluções a 5-7%, e a dose recomendada é de 3-3,5mg/Kg. A dose a ser administrada e o número de aplicações dependem da espécie causadora da doença (*B. bigemina* por ser mais sensível requer doses menores e, geralmente uma única aplicação; se o agente for *B. bovis*, são necessárias, no mínimo, duas aplicações com intervalo de 24 horas). Os derivados da diamidina devem ser aplicados por via intramuscular profunda, com cuidados de contenção do bovino, por causa da intensa dor (Farias, 1995).

O mais recente tratamento introduzido é com o Dipropionato de Imidocarb, o qual é usado na dose de 1mg/Kg de peso vivo. É uma droga amplamente utilizada na América do Sul contra as espécies de *Babesia*. Tem uma efetividade muito alta, é relativamente atóxica, porém deixa resíduos nos tecidos por semanas após seu uso. São descritos como efeitos colaterais: dor no local da aplicação, lacrimejamento e sintomas gastrintestinais, como diarreia (Taylor *et al.*, 1992; Brandão e Hagiwara, 2002).

No início do século passado, usava-se como droga babesicida o “Azul de Tripan”, que foi a primeira droga específica utilizada no tratamento de infecções por *B. bigemina*. Atualmente, não mais usada, por não ser eficaz contra *B. bovis*, produzir descoloração da carne do animal, pelo surgimento de drogas mais eficazes e ainda por haver relatos que a utilização desta deixava o leite das vacas de cor azulada (Farias, 1995; De Vos e Potgieter, 1993).

3.11. Controle e Profilaxia

O controle da babesiose tem como alvo principal o controle do carrapato vetor, pois populações elevadas deste ácaro podem causar prejuízos consideráveis aos bovinos. Entretanto, em nenhuma hipótese podemos preconizar a eliminação completa de *B. microplus* de um rebanho. As medidas de controle de carrapatos devem permitir a manutenção de uma população mínima que garanta um nível adequado de imunidade dos animais contra *Babesia* spp. Com isso, a imunidade dos bovinos adultos poderá ser mantida, possibilitando que os animais jovens recebam níveis adequados de proteção colostrar. Em bezerros criados confinados desde o nascimento, sem terem sido parasitados por *B. microplus*, apesar de terem recebido anticorpos colostrais, estes muitas vezes são colocados no pasto após terem perdido a proteção passiva do colostro, podendo desenvolver quadros graves de babesiose (Sequeira e Amarante, 2002).

A maioria dos carrapaticidas produzidos, possuem uma característica em comum: agem por ingestão e contato. Por essa razão, é indispensável que o carrapaticida atinja todas as partes do corpo do animal, entrando em íntimo contato com o ácaro. A aplicação dos carrapaticidas em apenas uma região do corpo, como ocorre com os produtos de ação sistêmica, não proporciona bons resultados. Os carrapaticidas atualmente em uso no Brasil são empregados em banhos de imersão ou em banhos de pulverização e estes, quando mal feitos, conduzem os carrapatos a se adaptarem ao carrapaticida e acionam seu sistema de defesa, terminando por agregar a característica de resistência em seu sistema cromossômico (Franci *et al.*, 1981).

Chiminazzo *et al.*, 2004, observaram que em somente 10 (26,3%) de 38 caldas carrapaticidas a base de amitraz utilizadas em propriedades apresentaram eficácia igual ou superior a 98%, enquanto que 28 (73,3%) foram ineficazes para o controle dos carrapatos, caracterizando problemas relacionados com as caldas carrapaticidas, já que, anteriormente, teleóginas destas propriedades haviam sido testadas com solução à base de amitraz e 38 (88,37%) de 43 amostras haviam apresentado eficácia igual ou superior a 98%, quando utilizada na concentração recomendada pelo fabricante.

Em 2003, Ceresér *et al.*, relataram que de um total de 207 amostras de calda-de-banheiro, 50% mostraram-se eficazes, 29% com falha devido a baixa concentração do produto e 21% com sinais de resistência ao princípio ativo em uso. Destes, 8% dos carrapatos mostraram-se resistentes ao Amitraz, 12% resistentes a associação Cipermetrina/Clophenvinphos, 19% resistentes a Alfametrina, 29% resistentes a Deltametrina e 32% resistentes a Cipermetrina.

Além dos métodos de controle e profilaxia através de carrapaticidas, existe o método de premunicação e vacinação contra a babesiose bovina.

Até algum tempo atrás, a premunicação era o único método de controle disponível para a babesiose, e trata-se de uma vacinação com sangue de bovinos adultos, portadores crônicos, contendo os agentes virulentos. Esse método ainda é em algumas áreas amplamente utilizado, como no Brasil e no México, devido ao seu baixo custo e

fácil acesso, porém deve ser monitorado através do controle da temperatura corporal do animal e do uso de subdosagens de quimioterápicos específicos para babesiose evitando a ocorrência da doença clínica aguda e ao mesmo tempo permitir que o animal receptor monte uma resposta imune primária ao protozoário. A premunicação possui alguns inconvenientes, como o uso de sangue contaminado com outros agentes; sangue não infectado com *Babesia* spp., utilizado para a realização do procedimento; inoculação de quantidades inadequadas de eritrócitos parasitados (Fonseca *et al.*, 2006; Embrapa, 2006).

O método mais indicado para prevenir a babesiose bovina é a vacinação com os agentes atenuados produzidos em bovinos sadios. Existe no mercado a vacina refrigerada e a vacina congelada, porém a refrigerada tem alguns inconvenientes em relação à congelada, devendo ser utilizada no máximo até cinco dias após sua produção; além disso, o curto período de validade não permite o teste prévio da partida antes de sua utilização. A vacina congelada é estável por tempo indeterminado; cada partida é testada previamente e pode ser transportada para qualquer lugar (Fonseca *et al.*, 2006).

Desde 1989, vacinas congeladas para *B. bigemina* e *B. bovis* têm sido produzidas no Onderstepoort Veterinary Institute (OVI), na África do Sul, as quais passam por um alto controle de qualidade antes de sua distribuição (De Wall e Combrink, 2006).

Hope *et al.*, 2005, relataram que dois antígenos de *B. bovis*, 12D3 e 11C5, foram expressados e purificados como proteínas recombinantes em *Escheria coli* e usados para vacinar grupos de 6 bovinos susceptíveis a babesiose. Após, esses animais foram desafiados com uma cepa extremamente virulenta de *B. bovis*. Os grupos vacinados que receberam o antígeno 12D3 ou 11C5 ou uma combinação dos dois, reduziram a parasitemia em aproximadamente quatro vezes e controlaram a infecção do parasito.

Em 2004, Jittapalapong *et al.*, observaram a redução na incidência da babesiose clínica em bovinos imunizados com preparações da glândula salivar de carrapatos *B.*

microplus comparados com bovinos não imunizados com as mesmas. Este resultado indica que a imunização com antígenos da glândula salivar pode alterar a transmissão da infecção por *Babesia* spp., além de ser uma técnica promissora para o controle das doenças transmitidas por carrapatos aos bovinos.

4. Material e Métodos

4.1. Amostras dos soros bovinos:

A amostragem constou de bovinos pertencentes à faixa etária de 6-11 meses. A coleta das amostras foi aleatória dentro da faixa etária selecionada de acordo com Canon e Roe, 1982.

Para um total de aproximadamente 2000 animais, foram colhidas 379 amostras de sangue de bovinos, com idade entre 6-11 meses, do município de Encruzilhada do Sul, RS, no período de setembro de 2005 à março de 2006. Após a coleta com Vacutainer® da jugular, as amostras eram armazenadas em recipiente de isopor com gelo e transportadas para o Laboratório de Protozoologia Veterinária da UFRGS em Porto Alegre. No Laboratório de Protozoologia, estas amostras eram centrifugadas por 5 minutos para que houvesse a separação dos soros, e logo após, estes eram acondicionados em tubos de Eppendorf e armazenados à -18°C , até o momento da realização dos testes sorológicos.

4.1.1. Técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI):

Os soros dos bovinos foram transportados sob refrigeração até o Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), em Eldorado do Sul, RS, para a realização da prova sorológica de IFI.

No teste de IFI, o antígeno foi distribuído sobre a lâmina que era armazenada a uma temperatura de -18°C . Os soros foram descongelados e diluídos 1:40 com PBS. Após esta diluição, os soros foram distribuídos nos poços da lâmina e incubados durante 45 minutos à 37°C . Após a incubação, fez-se lavagem com PBS de toda a lâmina. Depois fazia-se a diluição do conjugado em 1:40 com PBS. Do conjugado diluído, pingou-se uma gota em cima de cada poço da lâmina de IFI que já continha os soros e incubou-se novamente por 45 minutos à 37°C . Após esta segunda incubação, lavou-se a lâmina

novamente com PBS, secou-se com papel toalha e observou-se em microscópio de Imunofluorescência, na objetiva de 100X.

4.2. Amostras de teleóginas de *B. microplus*:

As amostras de teleóginas deste estudo, foram colheitadas nas mesmas propriedades onde foram obtidas as amostras de sangue dos bovinos e dos mesmos animais. Foram coletadas 20 teleóginas, aleatoriamente, de cada propriedade. Como foram visitadas 6 propriedades, o total de teleóginas foi 120.

4.2.2. Exame de hemolinfa:

Para o exame de hemolinfa, as teleóginas foram transportadas ao IPVDF e mantidas em estufa durante 4 dias pós coleta. No 4º dia, estas teleóginas eram coladas em linha com o auxílio de fita crepe e então fazia-se a secção de uma das patas para a saída da gota de hemolinfa que era posta sobre uma lâmina de microscopia. Após, esta gota era fixada com álcool metílico por 3 minutos coradas com solução de Giemsa por aproximadamente 10 minutos, enxaguadas e analisadas no microscópio com óleo de imersão em aumento de 1000X.

Se a teleógina apresentava-se negativa, os exames transcorriam até o 10º dia pós coleta.

4.3. Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando-se o programa Graphpad Instat, V2.04 e o Minitab, com um nível de significância de 5%.

5. Resultados

5.1. Imunofluorescência Indireta (IFI):

Dos 379 soros testados, 179 (47,23%) foram positivos, reagentes para *B. bovis* e/ou *B. bigemina*.

Nas figuras 6 e 7 é demonstrado reação de Imunofluorescência indireta positiva para *B. bovis* e *B. bigemina* respectivamente.

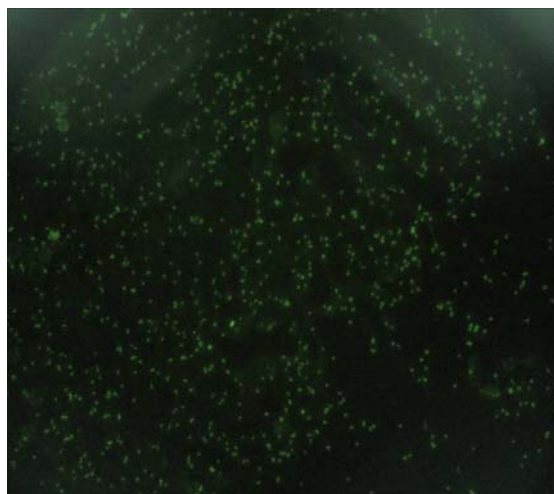


Figura 6- Reação de Imunofluorescência positiva para *B. bovis*.

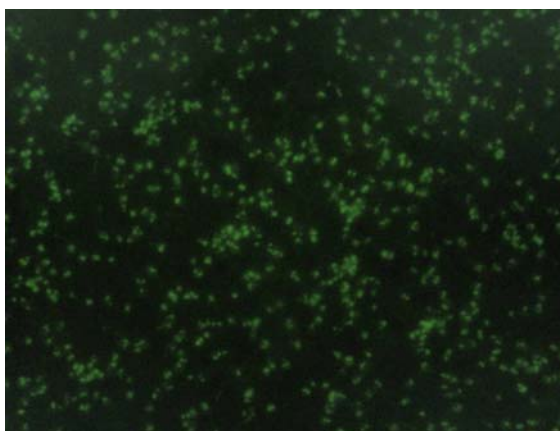


Figura 7- Reação de Imunofluorescência positiva para *B. bigemina*.

A figura 8, demonstra uma reação de Imunofluorescência indireta negativa para babesiose bovina.

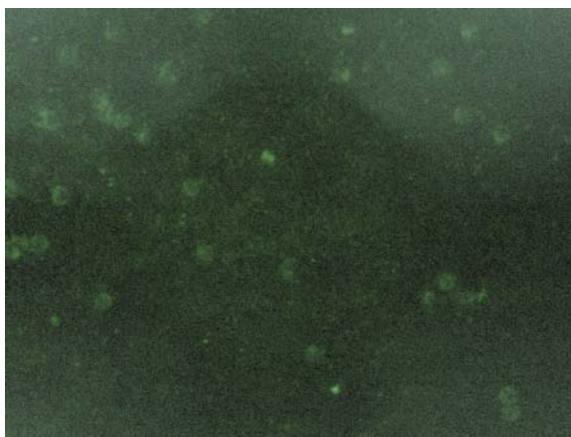


Figura 8- Reação negativa de Imunofluorescência para babesiose bovina.

O trabalho foi realizado num total de 6 propriedades de Encruzilhada do Sul. Na primeira propriedade foram testados 52 animais, dos quais 36 foram negativos, 2 animais foram positivos para ambas espécies de Babesia, 8 animais foram positivos

para *B. bigemina* e 6 para *B. bovis*. Na segunda propriedade, foram testados 11 animais e todos foram negativos. Na terceira propriedade foram testados 15 animais e todos foram negativos. Na quarta propriedade, foram testados 36 animais, entre estes, 34 foram negativos, 2 foram positivos para *B. bigemina* e nenhum animal foi positivo para *B. bovis*. Na quinta propriedade foram testados 141 animais, destes 63 foram negativos, 20 animais foram positivos para ambas espécies de Babesia, 27 foram positivos para *B. bigemina* e 31 para *B. bovis*. Na sexta propriedade, foram testados 124 animais, somente para *B. bigemina*, devido ao fato que durante a fase de testes destes soros, houve esgotamento do antígeno de *B. bovis* no IPVDF, não sendo possível a produção do mesmo até o término deste projeto. Entre os 124, 40 foram negativos e 84 positivos. A tabela 1 demonstra o número de animais positivos de acordo com a propriedade

TABELA 1- Resultados da sorologia de acordo com a propriedade.

Propriedade/ Resultado	Ambas	<i>B. bigemina</i>	<i>B. bovis</i>	Total
1	2	8	6	16
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	2	-	2
5	20	27	30	77
6	-	84	-	84
Total	22	121	36	179

A análise estatística dos resultados das diferentes propriedades, através do teste do qui-quadrado revelou que a propriedade 1 apresenta 19% dos animais positivos para *B. bigemina*, a propriedade 4 tem menor percentual de positivos (5,6%). A propriedade 6 apresenta quase 68% dos animais positivos. A explicação desta diferença de resultados, pode estar no fato de que a coleta realizada nos animais da propriedade 6 foi no verão (mês março de 2006), enquanto que nas primeiras propriedades as coletas foram realizadas no início da primavera.

Em relação a *B. bovis*, na propriedade 1, 15% dos animais examinados foram positivos enquanto que na propriedade 5, 36% dos animais foram positivos. Analisando os resultados para ambos os tipos de Babesia, verifica-se que há uma grande variabilidade nestes resultados, pois algumas propriedades não têm babesia, outras têm apenas uma e outras têm as duas. Na propriedade 5 foram detectados mais animais positivos e positivos para as 3 categorias, enquanto que na propriedade 1 temos mais negativos.

5.2. Esfregaço de hemolinfa das teleóginas:

Não foi encontrado nenhum resultado positivo durante a realização dos esfregaços de hemolinfa.

6. Discussão

Este trabalho teve como um dos objetivos determinar a frequência de *Babesia* spp. em soros bovinos, sem nenhuma sintomatologia específica, na região de Encruzilhada do Sul, RS, Brasil, município o qual não se conhecia nenhum dado de frequência da babesiose bovina.

Entre os 255 soros testados para *B. bigemina* e/ou *B. bovis*, 95 (37,25%) foram positivos. Destes, 36 (37,89%) para *B. bigemina* e 29 (30,53%) para ambas espécies e 37 (38,95%) para *B. bovis*, índices abaixo dos encontrados por Guillén *et al.*, 2001, no estado de Aragua, Venezuela, com soros bovinos através da técnica de IFI, onde a maior porcentagem de soros positivos correspondeu a *B. bigemina* com 58,83%, enquanto *B. bovis* apresentou 47,59% de positividade.

Em 1984, Kessler *et al.*, estudaram a prevalência de *B. bovis* nas diferentes regiões fisiográficas do Estado do Rio Grande do Sul, através de claps cerebrais de 579 bovinos. Na região da Serra do Sudeste, onde se localiza o município de Encruzilhada do Sul, a prevalência encontrada foi de 34%, valor muito próximo ao encontrado neste trabalho, embora as técnicas diagnósticas não sejam as mesmas.

Os valores para *B. bovis* encontrados, também ficaram abaixo dos observados por Martins *et al.*, 1994, em Santana do Livramento, RS, onde 87,2% das propriedades estudadas apresentaram alta prevalência de anticorpos para *B. bovis* (> 80%), em bovinos de 11 meses de idade pelo teste de ELISA. Porém, é sabido que, em estudo de soroprevalência para *B. bovis*, a sensibilidade e especificidade do teste de ELISA é superior ao teste de IFI, ficando em torno de 98% e 98,1% respectivamente, contra 97,9% e 96,8% da IFI. Por outro lado, para estudos de soroprevalência para *B. bigemina*, o teste de IFI apresenta sensibilidade e especificidade de 100% contra 100% para a primeira e 98% para a segunda no teste de ELISA (Embrapa, 2006).

Em 1983, Madruga *et al.*, determinaram a prevalência de *B. bigemina* e *B. bovis* em gado zebuino, com idade entre 3-10 meses, na região de cerrado do Estado de Mato Grosso do Sul, através da técnica de IFI. Os resultados revelaram prevalência de 12,89% para *B. bigemina* e 19,04% para *B. bovis*, consideradas baixas quando comparadas com resultados obtidos em outras regiões do país e abaixo dos valores encontrados neste estudo.

Em 2000, Madruga *et al.*, determinou a prevalência de anticorpos de *B. bovis* e *B. bigemina* em 218 soros bovinos de 4 municípios do estado do Rio de Janeiro pela técnica de IFI. A positividade ficou em 82,11% para *B. bovis* e 94,03% para *B. bigemina*, valores bem acima dos encontrados neste trabalho, caracterizando os municípios estudados naquela ocasião como sendo de estabilidade enzoótica.

Espinosa *et al.*, 2002, cita que na Venezuela a prevalência das hemoparasitoses de bovinos, incluindo *Anaplasma marginale*, oscilam entre 50% e 70%, percentual próximo ao total de 47,23% de positivos encontrados.

Entre os 124 soros testados somente para *B. bigemina*, 84 (67,74%) foram positivos, sendo que entre estes, as fêmeas apresentaram maior positividade. Em 1995, Artiles *et al.*, encontrou um valor de 87% de positivos para *B. bigemina* no município de Bagé, RS, através da técnica de IFI. Os valores encontrados por Artiles *et al.*, (1995) e por Martins *et al.*, (1994), foram superiores aos encontrados neste trabalho, em soma que os estudos foram efetuados em mesmo Estado.

Em 2000, Souza *et al.*, determinaram a soroprevalência de *B. bigemina* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense, RJ. De um total de 532 amostras testadas pelo teste de Elisa, 371 (69,74%) foram reagentes, valor muito próximo ao 67,74% encontrado neste estudo.

A baixa taxa de anticorpos encontrada nos bovinos deste estudo, pode-se dever ao fato do inverno de 2005 ter sido extremamente rigoroso na região de Encruzilhada do Sul, o que causaria uma forte queda na população dos carrapatos na região durante os meses mais frios do ano. Como a maioria das amostras foi colheitada em setembro de

2005, período de transição entre o inverno e a primavera no Brasil, a taxa detectada refletiu esse fenômeno. Somando-se a este fato, durante as visitas às propriedades, não se notava uma presença significativa de carrapatos parasitando os animais.

Em relação aos esfregaços de hemolinfa, os quais todos foram negativos, De Wall e Combrink, 2006, relataram que em estudos realizados na Austrália, foram encontrados 0,04% de carrapatos coletados a campo positivos para *B. bovis* e 0,23% para *B. bigemina*, o que justifica uma maior taxa de infecção por *B. bigemina* em bovinos.

Em outro estudo, realizado por Oliveira *et al.*, 2005, 77 teleóginas de 260 coletadas de bezerros e 7 de 236 coletadas de vacas adultas apresentaram vermículos de *Babesia* spp. em sua hemolinfa, porém, todas teleóginas positivas eram pretencentes a animais positivos para babesiose em esfregaços de sangue.

Como o afirmado por Brito *et al.*, 2002, não existe um consenso sobre o período mais adequado para a realização do exame de hemolinfa de teleóginas, fato o qual pode acarretar resultados falso-negativos.

7. Conclusões

Com base nos dados obtidos através da análise laboratorial dos soros bovinos e de esfregaços de hemolinfa de teleóginas de *B. microplus* de Encruzilhada do Sul, RS, podemos concluir que:

- a frequência de anticorpos para *Babesia* spp detectada neste trabalho foi de 47,23%, ficando abaixo do índice indicado como sendo uma zona de estabilidade enzoótica para TPB (80%), caracterizando a região como de instabilidade enzoótica;
- houve uma grande variabilidade de resultados entre as propriedades estudadas;
- não houve correlação entre a sorologia e a presença de vermículos de *Babesia* spp. na hemolinfa de teleóginas.

Referências bibliográficas

ACHA, P.N; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**, Ed. Oficina Panamericana de La Salud, Washington, D.C, 1977. 708p.

ARTECHE. C.C.P. **Imunoprofilaxia da Tristeza Parasitária Bovina (TPB) no Brasil. Uso de cepas atenuadas de *Babesia* spp e de cepa heteróloga de *Anaplasma***. Revista A Hora Veterinária, ano 11, n.66, março/abril 1992.

ARTILES, J. *et al.* **Prevalência de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* no município de Bagé, RS**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, vol.4; supl.1, 1995.

BARROS, C.S.L. **Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Departamento de defesa animal, 2003. 50p.

BARRY, D.N. *et al.* **A microplate enzyme immunoassay for detecting and measuring antibodies to *Babesia bovis* in cattle serum**. Australian Veterinary Journal. N.59, p. 136-140, 1982.

BELLATO, V. **Tristeza Parasitária dos Bovinos**. In: BECK, A.A.H; GARCIA, E.C.T; BORGES, P.C.C. Manual de Parasitoses dos Animais. Florianópolis: Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, 1985, p.73-80.

BRANDÃO, L.P. HAGIWARA, M.K. **Babesiose canina – revisão**. Clínica Veterinária, n.41, p.50-59, 2002.

BRITO, C.F. *et al.* **Dinâmica de infecção por *Babesia* spp. na hemolinfa de teleóginas de *Boophilus microplus* naturalmente infectados**. In: Salão de Iniciação Científica, 14, 2002. Porto Alegre. Resumos. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002. P-138.

CALLOW, L.L.; HOYTE, H.M.D. **Transmission experiments using *Babesia bigemina*, *Theileria mutans*, *Borrelia* sp., and the cattle tick *Boophilus microplus***. Australian Veterinary Journal. V.37, p..381-390, 1961.

CALLOW, L.L.; MACGAVIN, M.D. **Cerebral babesiosis due to *Babesia argentina***. Australian Veterinary Journal, v.39, p.15-21, 1963.

CANON E ROE, 1982. **IN: THURSFIELD, M. Veterinary Epidemiology**. Ed: Butterworths e Co. 1.ed. 1986. 280p.

CERESÉR, V.H. *et al.* **Identificação de estirpes resistentes do carrapato *Boophilus microplus* frente aos carrapaticidas usualmente empregados no seu controle, no estado do Rio Grande do Sul.** Revista Veterinária em foco. vol.1, n.1,p.71-76, maio/outubro 2003. Ed. Ulbra Canoas.

CHIMINAZZO, C. *et al.* **Eficácia de carrapaticidas amidínicos para o controle do *Boophilus microplus*: Influência do pH da calda carrapaticida.** Revista Veterinária em foco. vol.2, n.1,p.89-94, maio/outubro 2004. Ed. Ulbra Canoas.

CRINGOLI, G. *et al.* **Epidemiology of bovine tick-borne diseases in southern Italy.** 2002. Veterinary Research. Vol.33. p.421-426. Disponível em: <http://www.edpscience.org>. Acesso em: 01.out.2006.

DE VOS, A.J.; POTGIETER, F.T. **Bovine babesiosis.** In: COETZER, J.A.W. *et al.* Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa. Cape town: Oxford University, 1993. V.1, cap.23, p.278-294.

DE WALL, D.T.; COMBRINK, M.P. **Live vaccines against bovine babesiosis.** Veterinary Parasitology. n.138. p.88-96. 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com>. Acesso em: 19.out.2006.

EMBRAPA GADO DE CORTE. **Babesiose Bovina**. Disponível em: <http://www.cnpqg.embrapa.br/publicações/naoseriadas/babesia/babesia.html>. Acesso em: 02.out.2006.

ESPINOZA, E. *et al.* **Hemoparasitos em becerros esplenectomizados bajo condiciones de pastoreo**. Revista Veterinaria Tropical, v.27, n.2, p.99-110, julho/dezembro 2002.

EVERITT, J.I. *et al.* **Experimental *Babesia bovis* infection in Holstein calves**. Veterinary Pathology, v.23, p.556-562, 1986.

FARIAS, N.A.R. **Efeito diferencial de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* sobre a capacidade reprodutiva do vetor *Boophilus microplus***. Rio de Janeiro, 1994.125p. Tese doutorado. Fundação Oswaldo Cruz.

FARIAS, N.A.R. **Diagnóstico e Controle da Tristeza Parasitária Bovina**. Livraria e Editora Agropecuária, Guaíba. 1995. 80p.

FONSECA, C.L.S. *et al.* **Babesiose bovina: revisão de literatura com ênfase nos métodos de diagnóstico e controle**. Disponível em: <http://www.cnpqg.embrapa.br>. Acesso em: 14.set.2006.

FRANCI, M.; CURY, R.M; MACHADO, M.B. **O *Boophilus microplus* e seu controle em banhos de imersão e pulverização.** Revista A Hora Veterinária. ano 1, n.1, p.43-47, maio/junho 1981.

GONZALES, J.C. **O controle do carrapato do boi.** Editora UPF, 2003. 129p.

GUILLÉN, A.T. **Diagnóstico de hemoparasitos em el Instituto de Investigaciones Veterinarias.** Periodo 1986-2000. Revista Veterinaria Tropical, vol.26, n.1,p.47-62, janeiro/junho 2001.

HAWARD, J. *et al.* **Babesiose Bovina.** Disponível em: [http://www.vet.uga.edu/vpp/nsep/babesia/por](http://www.vet.uga.edu/vpp/nsep/babesia/por/index.htm)index.htm. Acesso em: 22.out.2006.

HOPE, M. *et al.* **Potential for recombinant *Babesia bovis* antigens to protect against a highly virulent isolate.** Parasite Immunology, v.27. p. 439-445.2005.

INTERVET. **Tristeza Parasitária Bovina.** Disponível em: <http://www.intervet.com.br/doencas/TPB>. Acesso em: 06.out.2006.

JITTAPALAPONG, S. *et al.* **Reduced incidence of *Babesia bigemina* infection in cattle immunized against the cattle tick, *Boophilus microplus*.** Ann NY Academic Science, p.312-318. Outubro 2004.

JÚNIOR, E.D. **Tristeza Parasitária Bovina**. Sociedade Rural do Paraná. Disponível em: <http://www.srp.com.br>. (2005). Acesso em: 12.out.2006.

KESSLER, R.H. *et al.* **Babesiose cerebral por *Babesia bovis* (Babés 1888, Starcovici 1893) em bezerros do estado do Mato Grosso do Sul**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.18, p.931-935, 1983.

KESSLER, R.H.; ARAUJO, F.A.P.; SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L. **Prevalência de *Babesia bovis* através de esfregaço cerebral de bovinos provenientes das 11 regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul**. Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS, Porto Alegre, v.12, p.41-46, dezembro/1984.

LEVINE, N.D. **Veterinary Protozoology**. Ames, Iowa State University Press, EUA, 1985.

MADRUGA, C.R.; AYCARDI, E.; PUTT, N. **Epidemiologia da Anaplasmosose e Babesiose em Bovinos da Região de Cerrado do Estado de Mato Grosso do Sul: I-Prevalência**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.35, n.5, p. 631-640, 1983.

MADRUGA, C.R. *et al.* **Prevalência de anticorpos contra *Babesia bovis* (Babés, 1888) e *Babesia bigemina* (Smith e Kilborne, 1893) (Apicomplexa: *Babesiidae*) em bovinos de 4 municípios do estado do Rio de Janeiro**. Revista Brasileira Ciência Veterinária. vol.7, n.2, p 113-116. maio/agosto 2000.

MAHONEY, D.F.; MIRRE, G.B. ***Babesia argentina*: the infection of splenectomized calves with extracts of larval ticks (*Boophilus microplus*)**. Res. Vet. Sci., v.16, p.112-114, 1974.

MAHONEY, D.F. ***Babesia of Domestic Animals***. In: Kreier, J.P. Parasitic Protozoa. New York: Academic Press, 1977, v.4, p.1-76.

MARTINS, J.R. *et al.* **Some aspects of the Epidemiology of *Babesia bovis* in Santana do Livramento, Southern Brazil**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.3, n.2, p.75-78, 1994.

NEVES, D.P. **Parasitologia humana**. 10.ed.São Paulo: Atheneu, 2000, 428p.

OLIVEIRA, M.C.S. *et al.* ***Babesia* spp. infection in *Boophilus microplus* engorged females and eggs in São Paulo State, Brazil**. Veterinary parasitology v.130, p.61-67, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com>. Acesso em 10.set.2006.

OZAKI, L.S. ***Babesia* in domestic animals: molecular biological tools for studying their taxonomy and life cycle**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.91, 1996.

PATARROYO, J.H. *et al.* **Description of lesions in cattle in a natural outbreak of *Babesia bovis* infection in Brazil**. Veterinary Parasitology, v.11, p.301-308, 1982.

ROGERS, R.J. **Observations on the pathology of *Babesia argentina* infections in cattle.** Australian Veterinary Journal, v.47, p. 242-247, 1971.

SAMUELSON, J. **Infectious diseases.** In: COTRAN, R.S. Robbins pathologic basis of disease.6.ed.Philadelphia: Saunders, 1999. Cap.9, p.389-391.

SEQUEIRA, T.C.G.; AMARANTE, A.F.T. **Parasitologia Animal, animais de produção.** 1.ed.Rio de Janeiro. Editora de Publicações Biomédicas LTDA, 2002. 158p.

SOULSBY, E.J.L. **Helminths, Arthropods e Protozoa of Domesticated Animals.** 6.ed. London: Bailliere, Tindall and Cassel Ltd, 1968, 824p.

SOUZA, J.C.P. *et al.* **Soroprevalência de *Babesia bigemina* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense.** Pesquisa Veterinária Brasileira. vol.20, n.1, Rio de Janeiro. janeiro/março 2000.

TABOADA, J. **Babesiosis.** In: GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. P. 473-781.

TAYLOR, S.M. *et al.* **Tick and Arthropod - borne diseases.** In: Bovine MEDICINE: Diseases and Husbandry of Cattle. Blackwell Science, 1992.

Ticks of Veterinary Importance. Animal and Plant Health Inspection Service. United States Department of Agriculture. Agriculture Handbook, n.485.

United States Animal Health Association. **Foreign Animal Diseases.** Carter Printing Company, Richmond, Virginia, 1992. P. 91-110.

URQUHART, G.M. *et al.* **Parasitologia Veterinária.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 273p.

YOKOYAMA, N.; OKAMURA, M.; IGARASHI, I. **Erythrocyte invasion by *Babesia* parasites: Current advances in the elucidation of the molecular interactions between the protozoan ligands and host receptors in the invasion stage.** Veterinary Parasitology, v.138, p.22-32, 2006.

ZINTL, A. *et al.* **Possible mechanisms underlying age related resistance to bovine babesiosis.** Parasite Immunology, 2005.n.27, p.115-120.

ZLOTNIC, L. **Cerebral piroplasmiasis in cattle.** Veterinary Record, v.40, p.642-643, 1953.

