

Método para classificar bovinos resistentes a infecção por *Babesia bovis*



Magda Vieira Benavides¹
Gizele Lima de Sá²
Ana Maria Sastre Sacco³

A babesiose bovina é uma enfermidade caracterizada por prostração, febre, icterícia, anemia hemolítica, presença ou não de hemoglobinúria, sintomatologia nervosa e freqüentemente morte. É causada por parasitos do gênero *Babesia*, hemoprotozoários que são transmitidos por carrapatos, sendo identificada e descrita em várias regiões do mundo onde há criação de bovinos com condições climáticas adequadas ao desenvolvimento do carrapato, ou seja, áreas geográficas entre os paralelos 32°N e 32°S. No Brasil, as espécies responsáveis pela babesiose bovina são *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* e são transmitidas pelo carrapato comum dos bovinos, o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A *Babesia*, junto com o *Anaplasma*, faz parte do complexo tristeza parasitária bovina.

Apesar da presença quase que constante do carrapato em todo o Brasil, a babesiose tem maior importância em determinadas regiões onde o clima é variável ao longo do ano com estações climáticas bem definidas e nem sempre favoráveis ao desenvolvimento constante do carrapato vetor, conseqüentemente ocorrendo babesiose. Esse quadro normalmente ocorre nas fronteiras sul e oeste do Rio Grande do Sul, onde existem bacias leiteiras utilizando gado europeu, muitas vezes importados de países livres de carrapato. Atualmente, a pecuária de corte fora do Rio Grande do Sul, a fim de aumentar a produtividade que consistia essencialmente na criação de gado zebuino, está sofrendo transformações tais como: mudanças no manejo dos campos (introdução de grandes áreas de agricultura e de pastagens cultivadas) e dos animais (cruzamentos industriais com introdução de raças européias onde só havia zebuínos, aumento da densidade populacional de bovinos) que alteram de maneira importante a estabilidade que era mantida com relação à sanidade do rebanho.

A importância econômica da babesiose no desenvolvimento da pecuária é determinada por muitos fatores, dentre os quais perdas por mortes, menor produção de carne e leite em animais doentes ou em recuperação, custos com quarentenas, tratamentos, manejos especiais, abortos e menor fertilidade temporária nos touros resultante da febre (LOMBARDO, 1976; McCOSKER, 1981). Segundo estudos realizados no Brasil, Argentina e Uruguai, os produtores apontam os carrapatos e a Tristeza Parasitária Bovina (TPB) como dos maiores problemas sanitários dos rebanhos (MADRUGA et al., 1986; SPÄTH; MANGOLD, 1986), sendo que a babesiose provoca perdas de 23 a 45% no ganho de peso dos animais (SOLARI et al., 1992).

A grande limitação no controle do problema TPB se encontra no fato de que os métodos de prevenção (pré-imunização e vacinas atenuadas) consistem de imunização através da infecção, ou seja, inoculação do agente vivo através de sangue, o que além de apresentar risco de doença, também pode disseminar outros agentes etiológicos, podendo trazer sérias conseqüências sanitárias aos rebanhos.

A resistência de indivíduos frente às infecções provocadas por parasitos tem sido sugerida como possível alternativa para amenizar o problema. Há evidências de que a característica de resistência seja transmitida de geração em geração, e por isso é de interesse no estudo de doenças veterinárias de alta mortalidade e morbidade. Até que sejam conhecidos e validados resultados de marcadores genéticos que indiquem que bovinos são mais resistentes à babesiose através do DNA, métodos de identificação experimentais são importantes para pesquisas na área da babesiose bovina.

Atualmente, a única possibilidade de identificação dos fenótipos (resistente, intermediário e suscetível) em animais é através da exposição dos bovinos ao parasito, o que ocorre de forma descontrolada quando há surtos de babesiose. Como os trabalhos de pesquisa devem ser realizados sob condições controladas e com segurança, foi desenvolvida uma metodologia através da inoculação de *B. bovis* em bovinos. Portanto, o objetivo deste trabalho é descrever a metodologia de desafio para a identificação de bovinos resistentes ou suscetíveis à primo-infecção por *B. bovis* para fins experimentais.

Os fenótipos resistente, intermediário e suscetível estão relacionados à rapidez e duração da resposta imune do bovino frente a *B. bovis*. Uma rápida ativação do sistema imune será benéfica ao hospedeiro, no entanto o prolongamento desta resposta pode, por outro lado, prejudicar o bovino, podendo levá-lo a óbito.

O principal órgão responsável pela imunidade frente à babesiose é o baço, devido a interação de células esplênicas tais como macrófagos e linfócitos no desenvolvimento de mecanismos que visam a remoção do parasito no organismo hospedeiro. Além disso, os macrófagos secretam fatores tóxicos (NO e O₂) e moléculas chamadas citocinas (IFN, IL12, IL18 e TNF) que regulam a resposta inflamatória. Tais fatores e moléculas também são responsáveis pela patologia clínica, uma vez que, durante a resposta imune, as hemácias, tanto parasitadas como sadias, acabam sendo danificadas.

Metodologia

1. *Cepas*. As cepas virulentas de *B. bovis* são mantidas em nitrogênio líquido e sua reativação é realizada em terneiro sensível e esplenectomizado. A terminologia sensível significa que o animal nunca teve contato direto com o carrapato vetor. Como o baço participa ativamente da resposta à infecção por *B. bovis* é necessária a remoção do órgão para que a infecção seja efetiva. O terneiro é infectado com cepa virulenta de *B. bovis* e quando este apresentar parasitemia, o sangue parasitado deste animal é inoculado em bovinos sensíveis experimentais (inóculo de 1 x 10⁷ de hemácias parasitadas via subcutânea).

¹Magda Vieira Benavides - Zootecnista, Dr., Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sul, Bagé/RS, mbenavid@cppsul.embrapa.br

²Gizele Lima de Sá - Bióloga, gezelha@hotmail.com

³Ana Maria Sastre Sacco - Veterinária, Dr., Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sul, Bagé/RS, anasacco@cppsul.embrapa.br

2. **Animais.** É essencial que os animais doadores (terneiros esplenectomizados) sejam livres de outras enfermidades para que não ocorra a inoculação de outros patógenos nos animais receptores e sensíveis, caso contrário poderão reagir à inoculação, uma vez que já possuem imunidade contra o inóculo. É também imprescindível que os animais receptores sejam sensíveis. Caso contrário, a identificação dos fenótipos não será confiável, uma vez que reações em animais já infectados mascaram a resposta do indivíduo, podendo classificá-lo como resistente quando na realidade esta resistência poderá ser devida à imunidade adquirida nas possíveis infecções anteriores.
3. **Monitoramento.** Antes da inoculação com *B. bovis*, são realizadas três coletas nos doadores e receptores para a determinação de temperatura retal e volume globular, e uma coleta de sangue com anti-coagulante para a determinação parasitemia e sangue sem anti-coagulante para sorologia anti-*B. bovis*, anti-*B. bigemina* e anti-*Anaplasma marginale*. O objetivo destas coletas pré-desafio é determinar os parâmetros normais de temperatura e de volume globular e obter a confirmação de negativa de parasitemia e de sorologia para *B. bovis* para os doadores e receptores. No desafio, o aumento de temperatura retal e a queda de volume globular são calculados como porcentagem em relação aos parâmetros normais. O monitoramento do desafio é realizado do 4^o. ao 30^o. dia pós-inoculação e neste período são realizadas coletas diárias para a determinação de temperatura retal, volume globular e parasitemia.
4. **Crítérios de classificação em fenótipos.** Através do desafio são distinguidas três categorias de animais quanto a resposta frente ao desafio:
- (1) animais resistentes (ou refratários) à infecção por *Babesia bovis*: animais com queda de volume globular de até 21,5%, leve parasitemia (detecção de presença do parasito) e sem necessidade de tratamento veterinário específico para babesiose;
 - (2) animais de fenótipo intermediário: bovinos com queda de volume globular de >21,5%, parasitemia e sem necessidade de tratamento veterinário específico para babesiose, e
 - (3) animais de fenótipo suscetíveis: animais com queda de volume globular de >21,5%, parasitemia e com necessidade de tratamento veterinário específico para babesiose.

Dentre os parâmetros observados, a queda de volume globular está estreitamente associada com os fenótipos de resistente, intermediário e suscetível. A decisão de tratamento deve estar baseada em quedas contínuas e bruscas de volume globular, número de dias com parasitemia positiva e alterações comportamentais como apatia, perda de condição corporal e alterações nervosas.

A necessidade de tratamento veterinário específico é o único critério usado para classificar um indivíduo como suscetível. Os animais de fenótipo intermediário apresentaram uma resposta imune mais eficiente, que os permitiu reestabelecer seus parâmetros normais sem a necessidade de tratamento veterinário específico.

A correta classificação dos animais em fenótipos é somente possível quando observada a resposta primária, objetivo principal da metodologia. Também é imprescindível a manutenção de poteiros de isolamento, áreas livres do carrapato vetor *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para a manutenção dos animais sensíveis. Note-se que em nenhum momento é usado desafio com carrapato, uma vez que seria difícil quantificar a carga parasitária destes animais em relação a *B. bovis*. A Figura 1 mostra os passos das etapas do desafio e a Tabela 1 mostra os resultados obtidos em 240 bovinos que foram classificados em três fenótipos (resistentes, intermediários e suscetíveis) conforme suas reações pós-inoculação.

A principal vantagem desta metodologia é a possibilidade de monitorar cuidadosamente e classificar bovinos em função de sua resposta frente à infecção por *B. bovis* para fins experimentais. Isto não era possível antes a menos que ocorressem surtos de babesiose nos rebanhos, o que seria extremamente perigoso uma vez que em surtos de campo não são conhecidos os inóculos e a possibilidade de óbito de animais seria extremamente alta. No entanto, não é desnecessário ressaltar que esta metodologia é experimental e não é adequada a trabalhos de campo.

Com esta metodologia de monitoramento da primo-inoculação dos hospedeiros é possível classificar bovinos como resistentes, intermediários e sensíveis à infecção por *B. bovis*. É necessário esclarecer que esta metodologia é experimental e não se destina a uso indiscriminado como forma de selecionar animais por meio de fenótipos mas sim de selecioná-los quando obtivermos marcadores moleculares associados à resistência frente à *B. bovis*. A seleção de animais mais resistentes à babesiose por meio de marcadores moleculares não pretende superar completamente as limitações atuais impostas pela babesiose, no entanto, permitirá que produtores rurais das mais diversas regiões endêmicas, beneficiários diretos dos resultados desta pesquisa, reduzam perdas produtivas e mortalidade nos seus rebanhos. Também, um menor número de tratamentos veterinários resultará em produtos de origem animal mais saudáveis e menor custo de produção.

Referências

- BENAVIDES, M. V.; SACCO, A. M. S. Differential *Bos taurus* cattle response to *Babesia bovis* infection. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 150, n. 1-2, p. 54-64, Nov. 2007.
- LOMBARDO, R. A. Socioeconomic importance of the tick problem in the Americas. **Pan American Health Organization Scientific Publication**, v. 316, p. 79-89, 1976.
- McCOSKER, P. J. The global importance of babesiosis. In: RISTIC, M.; KREIER, J. P. **Babesiosis**. New York: Academic Press, 1981. p. 1-24.
- SOLARI, M. A.; NARI, A.; CARDOZO, H. Impact of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* on the production of beef cattle in Uruguay. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, p. 143-149, 1992. Supplement III.
- SPÄTH, E. J. A.; MANGOLD, A. J. Algunas características de producción y sanidad de rodeos de ganado bovino de carne en el Sudeste de Salta y norte de Tucumán. **Revista Argentina de Producción Animal**, Buenos Aires, v. 6, n. 1-2, p. 101-112, 1986.

Comunicado Técnico, 65

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Pecuária Sul
Endereço: BR 153, km 603, Caixa Postal 242
 96401-970 - Bagé, RS
Fone/Fax: (53) 3242-8499
E-mail: sac@cppsul.embrapa.br

1^a edição
 1^a impressão (2008): 1^a tiragem



Comitê de Publicações

Presidente: Alexandre Varela
Secretário-Executivo: Ana Maria Sastre Sacco
Membros: Eduardo Salomoni, Eliara Freire Quincozes, Graciela Olivella Oliveira, João Batista Beltrão Marques, Magda Vieira Benavides, Naylor Bastiani Perez.

Expediente

Supervisão editorial: Comitê Local de Publicações - Embrapa Pecuária Sul
Revisão de texto: Comitê Local de Publicações - Embrapa Pecuária Sul
Tratamento das ilustrações: Kellen Pohlmann
Editoração eletrônica: Kellen Pohlmann