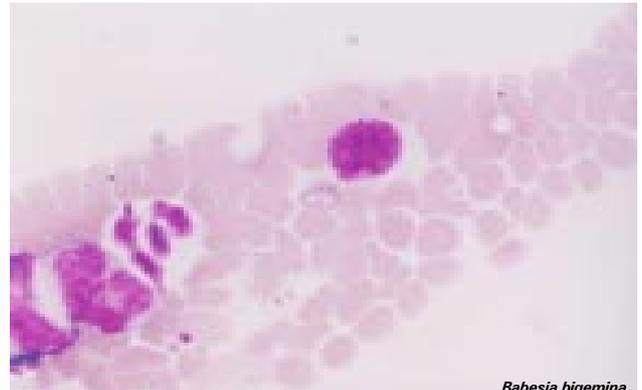


Aspectos epidemiológicos da babesiose bovina em São Carlos, SP

Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira



Babesia bovis



Babesia bigemina

Márcia Cristina de Sena Oliveira¹
Teresa Cristina Goulart de Oliveira-Sequeira²

As babesioses bovinas, no Brasil, são causadas por duas espécies, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, ambas transmitidas pelo carrapato *Boophilus microplus*. Essas parasitoses fazem parte de um complexo de doenças, conhecido no Brasil como “tristeza parasitária bovina”. As babésias multiplicam-se exclusivamente no interior dos eritrócitos, resultando uma enfermidade hemolítica e febril cuja gravidade depende de vários fatores relacionados ao parasita (cepa, espécie de protozoário, tamanho do inóculo) e ao hospedeiro (idade, raça, estado fisiológico e imunitário). Clinicamente, as babesioses caracterizam-se por febre, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia e morte em casos graves da doença (McCosker, 1981).

Do ponto de vista epidemiológico, as áreas de ocorrência das babesioses bovinas podem ser classificadas de acordo com a distribuição e a dinâmica populacional do seu vetor, o carrapato *Boophilus microplus*. Dessa forma, três situações ocorrem: áreas livres ou indenens, áreas de instabilidade e áreas de estabilidade enzoótica. As áreas indenens são aquelas onde as condições climáticas não permitem o desenvolvimento dos carrapatos e dessa maneira as babesioses não ocorrem. As áreas de instabilidade enzoótica se localizam nas áreas limítrofes de distribuição dos carrapatos e com isso, em determinadas épocas as condições climáticas impedem o desenvolvimento do ácaro. Durante esse período de ausência dos

¹ Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, km 234, Caixa Postal 339, CEP: 13560-970, São Carlos, SP. Endereço eletrônico: marcia@cppse.embrapa.br

² Professora do Departamento de Parasitologia, IB, Unesp-Botucatu, Rubião Júnior s/nº, Botucatu, SP. Endereço eletrônico: sequeira@ibb.unesp.br

carrapatos, ocorre queda dos níveis de anticorpos contra as babesias nos bovinos e, quando a situação climática permite novamente o desenvolvimento desses vetores, surtos da doença podem aparecer. Nas regiões em que o clima permite que as populações de carrapatos se mantenham, mesmo que flutuantes, ao longo dos anos, ocorre a chamada estabilidade enzoótica. Nessas condições, o rebanho é constantemente inoculado com babesias, o que mantém os níveis de anticorpos contra esses parasitas em patamares elevados. Em regiões de estabilidade enzoótica, são mais freqüentes os casos clínicos em animais jovens ou em animais com queda de resistência individual.

As perdas ocasionadas por essas hemoparasitoses são atribuídas a menor ganho de peso dos animais, decréscimo na produção de leite, infertilidade de touros, abortos e mortalidade. As babesioses representam também grande obstáculo à introdução de animais geneticamente superiores, provenientes de áreas livres, que geralmente são introduzidos com o propósito de aumentar a produtividade dos rebanhos

O diagnóstico das babesioses bovinas é feito principalmente por meio do exame microscópico de esfregaços de sangue periférico. Essa técnica é de grande importância no diagnóstico de bovinos clinicamente afetados. Em estudos epidemiológicos, no entanto, ela apresenta limitações, porque não é capaz de detectar animais em fases iniciais da doença e aqueles que já sofreram a doença e se estabeleceram como portadores. Os exames sorológicos, que detectam anticorpos específicos, também apresentam limitações, porque indicam a exposição ao agente, mas não

informam sobre o estágio da infecção (Wagner et al., 1992). As maiores dificuldades são encontradas nos estudos sobre a dinâmica das infecções por *Babesia* nos carrapatos. A pesquisa desses protozoários em esfregaços de hemolinfa e em macerados de ovos e larvas de *Boophilus microplus* apresenta como principais limitações a dificuldade de se identificar as espécies a partir das esporocinetos (formas evolutivas das babesias encontradas na hemolinfa das fêmeas adultas) e a baixa sensibilidade dos exames diretos. Por isso, tornou-se prioridade desenvolver métodos de diagnóstico específicos e sensíveis, que possibilitem diferenciar as duas espécies de babesias e também a detecção de bovinos com infecções inaparentes (portadores sadios) e os carrapatos naturalmente infectados (Guglielmone et al., 1997).

Avanços recentes no campo da biologia molecular tornaram possível o uso de técnicas de amplificação de DNA para verificar, de maneira relativamente rápida e com alta sensibilidade, a presença de hemoparasitas tanto nos carrapatos vetores como nos bovinos (Singh, 1997). A utilização dessas técnicas possibilita o melhor conhecimento da epidemiologia das babesioses e a obtenção de dados que permitem o aprimoramento de métodos de controle.

Com a finalidade de obter dados que permitissem a caracterização epidemiológica da região de São Carlos e testar métodos mais sensíveis e específicos para o diagnóstico das babesioses bovinas, as taxas de infecção por esses parasitas foram avaliados em 27 bezerros e 25 vacas mestiças leiteiras (*Bos taurus* x *Bos indicus*) criados na Embrapa Pecuária Sudeste e

em fêmeas adultas de *B. microplus* colhidas desses animais. Amostras de sangue da jugular de todos os animais foram utilizadas para a extração de DNA e posterior amplificação do DNA das babésias, utilizando a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase), conforme Figueroa et al. (1993), com algumas modificações. Amostras de sangue periférico foram utilizadas para a confecção de esfregaços corados com Giemsa. Esses esfregaços foram lidos em microscópio óptico, sendo verificado o número de células parasitadas em 1000 eritrócitos. A taxa de infecção dos carrapatos por babésias foi avaliada pelo exame microscópico de amostras de hemolinfa e pela amplificação do DNA parasitário de dez fêmeas adultas de *B. microplus*. Amostras de ovos de todas as fêmeas de carrapatos também foram avaliadas para infecção por babésias por meio do exame direto de esfregaços de macerado desses ovos e pela técnica de PCR.

Os resultados referentes aos exames microscópicos e à amplificação de DNA para *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* estão resumidos na Tabela 1. Dos 27 bezerros examinados, 12 foram positivos ao exame microscópico para *B. bigemina*, com parasitemias que variaram de menos de 0,1% a 0,2%. A presença de *B. bovis* foi detectada em 3 animais. Além das babésias, *Anaplasma marginale* foi encontrado em 12 animais, nos quais a parasitemia variou de 0,4% a 3,6%. Entre as 25 vacas, nenhuma foi positiva ao exame direto de esfregaços de sangue para babésias. Uma vaca apresentou parasitemia patente por *A. marginale* (0,6% de eritrócitos parasitados). As técnicas de amplificação de DNA parasitário a partir de amostras de sangue foram capazes de detectar

número significativamente superior ($P < 0,01$) de animais positivos para *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*. Com essa técnica, apenas quatro bezerros foram negativos para *B. bovis* e dois para *B. bigemina*. Entre as vacas todas foram positivas para *B. bovis* e quatro foram negativas para *B. bigemina*. As taxas de infecção dos bezerros, por ambas as espécies de *Babesia*, não diferiram significativamente ($P < 0,01$) da obtida nas vacas.

Nas fêmeas adultas de *B. microplus* colhidas de bezerros, o número de exemplares com infecção simples por *B. bigemina* (145) foi significativamente maior ($P < 0,01$) do que o de exemplares com infecção simples por *B. bovis* (12) e o de exemplares com infecções mistas (11). Nas fêmeas de carrapatos colhidas de vacas, as taxas de infecção por *B. bovis* e por *B. bigemina* foram semelhantes ($P > 0,05$), maiores do que as de infecção mista ($P < 0,01$) e menores do que a taxa de teleóginas com ausência de hemoparasitas (negativas) ($P < 0,01$).

A amplificação de DNA em amostras de ovos revelou elevada porcentagem de posturas negativas, especialmente quando os carrapatos se ingurgitaram em vacas. Para as fêmeas de carrapatos que realizaram o repasto sanguíneo em bezerros, predominou nas posturas a infecção simples por *B. bigemina*. Fêmeas de carrapatos colhidas de vacas produziram menor número de posturas infectadas, mas o número de posturas infectadas por *B. bovis* foi semelhante ao de posturas infectadas por *B. bigemina*.

Para os 431 pares de amostras de teleóginas e posturas analisados, ficou evidente o encontro de número expressivo de posturas

Tabela 1. Comparação dos resultados obtidos pelo exame direto de esfregaços de sangue e por amplificação de DNA (PCR/nPCR) para o diagnóstico de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em 27 bezerros e 25 vacas mestiças leiteiras criadas no Estado de São Paulo.

| Exame direto | Amplificação de DNA (PCR/nPCR) | | | | | | | |
|--------------|--------------------------------|------|--------------------|------|-----------------|------|--------------------|------|
| | Bezerros | | | | Vacas | | | |
| | <i>B. bovis</i> | | <i>B. bigemina</i> | | <i>B. bovis</i> | | <i>B. bigemina</i> | |
| | Pos. | Neg. | Pos. | Neg. | Pos. | Neg. | Pos. | Neg. |
| Positivo | 3 | 0 | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Negativo | 20 | 4 | 13 | 2 | 25 | 0 | 21 | 4 |

negativas (60,3%). Além disso, verificou-se que 70% das posturas produzidas por fêmeas infectadas com *B. bovis* foram negativas, enquanto que as fêmeas infectadas por *B. bigemina* transmitiram a infecção para 61% de posturas produzidas.

A elevada taxa de infecção apresentada pelos bovinos indica que a região estudada apresenta características de estabilidade endêmica, situação em que a transmissão de babesias é contínua (Mahoney & Ross, 1972; Goff et al., 1982), propiciando a infecção dos animais jovens. Como não se observou a presença de sinais clínicos de babesiose nos bezerros, presume-se que a imunidade passiva e inata seja suficiente para protegê-los contra os efeitos das babesioses clínicas durante os primeiros meses de vida, já que a imunidade ativa começa a se efetivar a partir dos quatro meses de idade (Passos et al., 1997). Esses achados estão de acordo com aqueles encontrados na literatura para de regiões classificadas como de estabilidade endêmica (Mahoney & Ross, 1972).

A ocorrência de babesioses em bezerros, do nascimento ao desmame, tem sido descrita

em diversas regiões do Brasil (Kessler et al., 1983; Madruga et al., 1983; FARIA, 1995).

Essa ocorrência tem sido atribuída à redução dos níveis de anticorpos colostrais associada à adoção de práticas de manejo que impedem o contato dos bezerros com os carrapatos durante os primeiros meses de vida. No rebanho estudado, o contato precoce dos animais com os carrapatos nos pastos e a proteção colostrais parecem ser responsáveis pela ausência de sinais clínicos de babesioses nos bezerros. Quanto às vacas, elas apresentam forte imunidade, em razão da prolongada exposição e, dessa maneira, raramente desenvolvem sinais clínicos.

A alta sensibilidade das técnicas de amplificação de DNA permitiu a identificação de número significativamente maior de animais infectados por *B. bovis* e *B. bigemina* do que o detectado por meio de exames diretos. Esses resultados estão de acordo com observações anteriores relativas às infecções por *Babesia* em várias espécies (Fahrimal et al., 1992; Figueroa et al., 1992, 1993; Battsetseg et al., 2001, 2002). Como os testes de amplificação de DNA detectam o parasita independentemente do

desenvolvimento da resposta imunológica, foi possível diagnosticar infecções, tanto por *B. bigemina* como por *B. bovis*, nos bezerros, ainda no primeiro mês de vida.

Nas fêmeas de carrapatos, as taxas de infecção pelas duas espécies de *Babesia* detectadas pela amplificação de DNA diferiram em função da categoria etária dos bovinos nos quais elas haviam se alimentado. Nas teleóginas colhidas de bezerros, houve predominância de infecções por *B. bigemina*, enquanto nas teleóginas colhidas de vacas não houve diferença entre o número de teleóginas infectadas por *B. bigemina* e por *B. bovis*.

Com base neste estudo, concluiu-se que, nas condições da região estudada, o ideal é manter o contato precoce dos bezerros com os carrapatos, evitando o surgimento de casos clínicos graves nos primeiros meses de vida. Para o rebanho em geral, seria conveniente manter a população de carrapatos sob controle, de forma que o número de carrapatos por animal não seja suficientemente elevado para causar prejuízos provocados pela espoliação de sangue, mas que não seja tão baixo a ponto de reduzir de maneira drástica os níveis de anticorpos circulantes contra os hemoparasitas.



Referências bibliográficas

BATTSETSEG, B.; XUAN, X.; IKADAI, H.; JOSE, R. B. L.; BYAMBAA, B.; BOLBAATAR, D.; BATTUR, B.; BATTSETSEG, G.; BATSUKH, Z.; IGARASHI, I.; NAGASAWA, H.; MIKAMI, T.; FUJISAKI, K. Detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in *Dermacentor nuttalli* adult tick. **International Journal of Parasitology**, v.31, p. 384-6, 2001.

BATTSETSEG, B.; LUCERO, S.; XUAN, X.; CLAVERIA, F.G.; INOUE, N.; ALHASSAN, A.; KANNO, T.; IGARASHI, I.; NAGASAWA, H.; MIKAMI, T.; FUJISAKI, K. Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Brazilian horses using nested-polymerase chain reaction. **Veterinary Parasitology**, v.107, p.351-7, 2002.

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

FAHRIMAL, Y.; GOFF, W. L.; JASMER, D. P. Detection of *Babesia bovis* carrier cattle by using polymerase chain reaction amplification of parasite DNA. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30, n.6, p.1374-9, 1992.

FIGUEROA, J. V.; CHIEVES, L. P.; JOHNSON, G. S.; BUENING, G. M. Detection of *Babesia bigemina*-infected carriers by polymerase chain reaction amplification. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30, n.10, p.2576-82, 1992.

FIGUEROA, J. V.; CHIEVES, L. P.; JOHNSON, G. S.; BUENING, G. M. Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. **Veterinary Parasitology**, v.50, p.69-81, 1993.

GOFF, W. L.; WAGNER, G. G.; CRAIG, T. M.; LONG, R. F. The bovine immune response to tick-derived *Babesia bovis* infection: Serological studies of isolated immunoglobulins. **Veterinary Parasitology**, v.11, p.109-20, 1982.

GUGLIELMONE, A. A.; GAIDO, A. B.; AGUIRRE, D. H.; CAFRUNE, M. M. Some quantitative aspects of natural babesial infection in the haemolymph of *Boophilus microplus* engorged female ticks. **Parasite**, v.4, p.337-41, 1997.

KESSLER, R. H.; MADRUGA, C. R.; SCHENK, M. A. M.; RIBEIRO, O. C. Babesiose cerebral por *Babesia bovis* (Babés1888, Starcovici, 1893) em bezerros, no Estado do Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.18, p.931-35, 1983.

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 Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.35, n.5, p.631-40, 1983.

MAHONEY, D. F.; ROSS, D. R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. **Australian Veterinary Journal**, v.48, p.292-8, 1972.

McCOSKER, P. J. The global importance of babesiosis. In: RISTIC, M.; KRIER, J. P. (Ed.). **Babesiosis**. New York: Academic Press, 1981. p.1-19.

PASSOS, L. M. F.; SCIAVICCO, C. J. S.; SAMPAIO, I. B. M.; LIMA, W. S. Estudo epidemiológico da babesiose bovina em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.6, n.2, supl.1, 1997.

SINGH, B. Molecular Methods for Diagnosis and Epidemiological Studies of Parasitic Infections. **International Journal of Parasitology**, v.27, n.10, p.1135-1145, 1997.

WAGNER, G.; CRUZ, D.; HOLMAN, P.; WAGHELA, S.; PERRONE, J.; SHOMPOLE, S.; RURANGIRWA, R. Non immunologic methods of diagnosis of babesiosis. **Memb. Instituto Oswaldo Cruz**, v.87, supl. 3, p.193-9, 1992.

Apoio:



Comunicado Técnico, 49

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Pecúária Sudeste
Endereço: Rod. Washington Luiz, km 234
Fone: (16) 3361-5611
Fax: (16) 3361-5754
Endereço eletrônico: sac@cppse.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2004): 100 exemplares

Comitê de publicações

Presidente: Alfredo Ribeiro de Freitas.
Secretário-Executivo: Edison Beno Pott
Membros: André Luiz Monteiro Novo, Odo Primavesi,
Maria Cristina Campanelli Brito, Sônia Borges de Alencar.

Expediente

Revisão de texto: Edison Beno Pott
Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito.