



CARRAPATO, TRISTEZA PARASITÁRIA E TRIPANOSSOMOSE DOS BOVINOS





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte
Ministério da Agricultura e do Abastecimento*

**CARRAPATO,
TRISTEZA PARASITÁRIA
E TRIPANOSSOMOSE
DOS BOVINOS**

Editores:

Raul Henrique Kessler

Maria Aparecida Moreira Schenk

Campo Grande, MS

Abril 1998

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa
Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte - CNPGC
Rodovia BR 262, km 4
Caixa Postal 154
CEP 79002-970 Campo Grande, MS
Telefone: (067) 768-2064 - Fax: (067) 763-2700

Tiragem: 1.700 exemplares

COMITÊ DE PUBLICAÇÕES

Araê Boock - Presidente
Cesar Heraclides Behling Miranda
Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima - Coordenação Editorial
Eduardo Simões Corrêa
Kepler Euclides Filho
Margot Alves Nunes Dode - Secretária Executiva
Maria Antonia Martins de Ulhôa Cintra - Normalização
Maria Isabel de Oliveira Penteado

Capa: Maria Aparecida M. Schenk

ISBN 85-297-0039-2

KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M., ed. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1998. 157p.

1. Bovino - Doença. 2. Parasitologia. 3. Carrapato. 4. *Boophilus microplus*. 5. Tristeza parasitária. 6. Tripanossomíase. I. Schenk, M.A.M., ed. II. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (Campo Grande, MS). III. Título.

CDD 636.089696

©EMBRAPA-CNPGC

Todas as propagandas veiculadas nessa publicação são de inteira responsabilidade dos respectivos anunciantes.

PREFÁCIO

A pujante pecuária bovina brasileira tem sido considerada elemento de grande importância no contexto sócio-econômico do País. Entretanto, o aumento da produção e da produtividade e, principalmente, da qualidade é fundamental para que a carne bovina brasileira possa competir no mercado internacional com outros países, parceiros como aqueles do Mercosul. Na região Centro-Oeste, onde se encontra a maior concentração do rebanho zebuino nacional, os pecuaristas vêm introduzindo raças taurinas que são mais sensíveis ao carrapato e às doenças por ele transmitidas. Assim, urge que os técnicos estejam preparados para atuar, junto aos pecuaristas, no sentido de evitar prejuízos econômicos resultantes do agravamento dos problemas sanitários causados por essas parasitoses.

Este livro é uma edição revisada dos capítulos da apostila elaborada para o CURSO SOBRE CARRAPATO, TRISTEZA PARASITÁRIA DOS BOVINOS E TRIPANOSSOMOSE, com ênfase em diagnóstico e controle, que foi coordenado pela Embrapa Gado de Corte em junho de 1997. Nesse contexto, houve preocupação da equipe técnica que ministrou o curso, em fornecer informações atualizadas e apresentar alternativas tecnológicas sobre o assunto. Este representa uma contribuição da Embrapa aos técnicos e estudantes interessados no crescimento de uma pecuária bovina que se desenvolva e se modernize continuamente, preservando sempre a qualidade zootécnica e sanitária do rebanho.

Campo Grande, MS, abril de 1998

Raul Henrique Kessler
Maria Aparecida Moreira Schenk
Editores

SUMÁRIO

Pág.

CARRAPATO

- O carrapato-do-boi *Boophilus microplus*: ciclo, biologia, epidemiologia, patogenia e controle 9
A. Gomes

TRISTEZA PARASITÁRIA DOS BOVINOS

- Tristeza parasitária dos bovinos (TPB): conceito, etiologia, transmissão, epidemiologia, diagnóstico e controle 47
R. H. Kessler; M. A. M. Schenk
- Imunidade contra *Babesia* e *Anaplasma* 69
F. R. Araújo; C. R. Madruga
- Diagnóstico parasitológico da tristeza parasitária bovina 81
R. H. Kessler; M. A. M. Schenk
- Diagnóstico sorológico da tristeza parasitária bovina 91
C. R. Madruga; F. R. Araújo
- Diagnóstico anatomopatológico da tristeza parasitária bovina 109
R. A. A. Lemos; L. Nakazato; S. C. Salvador

TRIPANOSSOMOSE

- Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle 123
R. A. M. S. Silva; A. M. R. Davila
- Imunidade contra *Trypanosoma vivax* 147
F. R. Araújo; C. R. Madruga

Assegure um rebanho forte e saudável.



Linha de Antiinflamatórios Schering-Plough Veterinária.

Central
de Atendimento
0800-117788
Schering-Plough
Cx Postal 18388 - CEP 04699-970



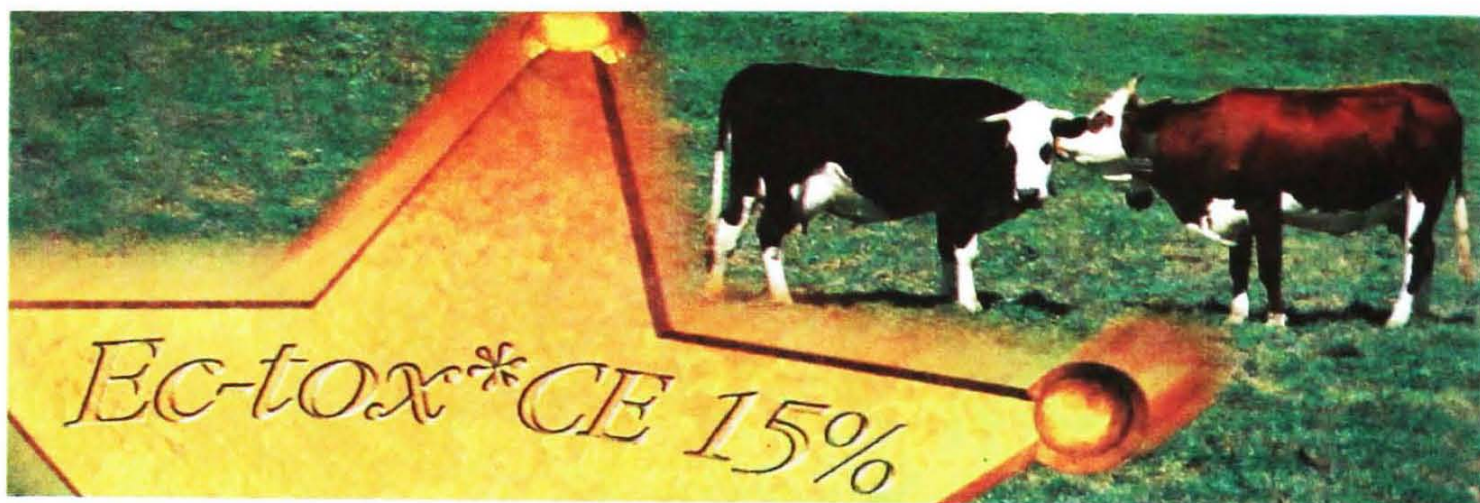
Schering-Plough Veterinária
PESQUISA E QUALIDADE TOTAL

Ec-tox* CE 15%

Com uma única aplicação, *Ec-tox* CE 15%*, possibilita excelente efeito carrapaticida e mosquicida, eliminando sem piedade os principais ectoparasitas do rebanho.

Rápido, estável e de baixa toxicidade. Nunca erra o alvo. Controla os parasitas externos com eficiência e ainda repele e mata as moscas que transmitem bicheiras e bernes.

Além de tudo isso, *Ec-tox* CE 15%* tem estrela:
a qualidade Schering-Plough.



Chegou

*O piretróide implacável da
Schering-Plough Veterinária.*



*Consultar o médico veterinário é indispensável para o uso correto de qualquer medicamento em seu animal.



Central
de Atendimento
0800-117788
Schering-Plough
Cx Postal 18.186 - CEP 04609-970



Schering-Plough Veterinária
PESQUISA E QUALIDADE TOTAL



CARRAPATO

O CARRAPATO-DO-BOI *Boophilus microplus*: CICLO, BIOLOGIA, EPIDEMIOLOGIA, PATOGENIA E CONTROLE

Alberto Gomes¹

INTRODUÇÃO

Classificação

Filo: Arthropoda

Subfilo: Traqueata

Classe: Aracnida

Ordem: Parasitiformes

Subordem: Metastigmata

Família: Ixodidae

Gênero: *Boophilus*

Espécie: *B. microplus*

Histórico

O *Boophilus microplus* é originário da Ásia, notadamente da Índia e Ilha de Java. Sua expansão se deu em virtude das Expedições

¹ Méd.-Vet., Ph.D., CRMV-MS Nº 0104, Embrapa Gado de Corte, Caixa Postal 154, CEP 79002-970 Campo Grande, MS.

Exploradoras registradas na História, com as transferências de animais e mercadorias. Hoje é encontrado na Ásia, Austrália, México, América Central, América do Sul e África, tendo-se estabelecido dentro dos climas demarcados pelos paralelos 32° Norte e Sul (Wharton, 1974), com alguns focos nos paralelos 35° Norte e Sul (Nuñez et al., 1982).

De acordo com Thiesen (1979), dificilmente pode-se traçar um roteiro da introdução do *Boophilus* no Brasil. Existem citações que ele teria vindo com bovinos comprados no Chile, no início do século XVII, e teria entrado no país através do Rio Grande do Sul. No Brasil, este ixodídeo incide em todo o território, com variações de parasitismo de acordo com as variações climáticas, manejo de rebanho, das pastagens, da própria sensibilidade aos carrapaticidas e tipo racial explorado, sendo os núcleos de raças européias e de criação de leite os mais atacados por essa ectoparasitose (Gonzales, 1975).

O incremento de área de pastagens cultivadas, aliado ao aumento da carga animal, e a maior participação de sangue taurino na região de Cerrados, têm proporcionado um desequilíbrio no ecossistema do *Boophilus*, tendo como consequência o aumento do desafio pelo gado zebu a este ectoparasito.

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

O *B. microplus* alimenta-se de sangue, e esta ação nefasta é a primeira e talvez a de menor importância, apesar de admitir que este processo espoliativo interfira no ganho de peso durante a vida do animal. Além disso, a inoculação de toxinas na corrente circulatória do

hospedeiro, poderia interferir na síntese protéica, resultando numa desproporção proteína-gordura, com prevalência desta última, flagrada por ocasião do abate.

Além das ações hematófaga e tóxica, o carrapato pode transmitir pelo menos dois gêneros de agentes infecciosos: a rickettsia *Anaplasma* sp. e o protozoário *Babesia* sp., responsáveis pela doença comumente chamada de “tristeza parasitária bovina” (TPB). Esta enfermidade apresenta-se em certas regiões como uma séria fonte de prejuízo à criação bovina.

O terceiro dano direto produzido pelo carrapato efetua-se no couro do animal. Este, ao fixar-se, introduz um órgão quitinoso e serrilhado denominado de hipostomio que lesiona o couro, favorecendo infestação posterior por miíases cutâneas. Essa lesão é identificada pelas indústrias de calçados e responsabilizada como uma vultosa fonte de prejuízos (Gonzales & Serra-Freire, 1992).

O Brasil pode ser considerado um país exportador de couros crus, curtidos, produtos semi industrializados e industrializados, como artefatos de couros, calçados, etc. O carrapato constitui-se num dos mais sérios entraves no aproveitamento total e na comercialização desses produtos.

Além desses danos considerados prejudiciais à bovinocultura brasileira, existem os indiretos que são aqueles resultantes da mão-de-obra necessária para fazer o combate ao parasito, assim como as demais despesas com construções, manutenção de banheiro e uso de carrapaticidas. Portanto, pela complexidade da ação dos carrapatos sobre os bovinos e a pecuária mundial, os prejuízos exatos são difíceis

de se calcular, contudo, as perdas diretas e indiretas devidas a esse parasita merecem ser salientadas.

Para a Austrália, Wharton & Roulston (1977) estimaram que os prejuízos causados pelo carrapato atingem a cifra de 42 milhões de dólares ao ano. No México, Beltran (1977) citou que o carrapato causa um prejuízo anual de aproximadamente US\$ 303,75 milhões na exploração leiteira. Para as áreas de sua ocorrência, calcula-se que cerca de 150 mil cabeças de gado morrem anualmente por doenças transmitidas, com um prejuízo aproximado de US\$ 225 milhões. As peles e couros são outros produtos que sofrem séria depreciação devido às lesões produzidas pelos carrapatos, sofrendo desvalorização de até 40% e elevando as perdas a US\$ 58,5 milhões. Segundo este autor o México deixa de produzir anualmente 550 milhões de quilogramas de carne elevando os prejuízos para US\$ 3,05 bilhões.

Na Argentina, Bergue De Grillo Torrado (1976) cita que os prejuízos em função do carrapato ocorridos no ano de 1972 foi de US\$ 90 milhões.

Horn & Arteché (1985) citam que as perdas causadas pelo carrapato no Uruguai são de 9,5 kg de carne/bovino/ano. Na Nicarágua, as estimativas mostram que uma vaca leiteira infestada com 50 carrapatos diminui a produção de leite em 20% e, para o Brasil, citam que os prejuízos produzidos pelo carrapato situam-se próximo a US\$ 800 milhões ao ano na pecuária nacional, e que, só no Rio Grande do Sul, calculou-se que o carrapato mata 136.084 bovinos por ano e 154.843 bezerros deixam de nascer.

Cerca de 70% dos couros curtidos no Brasil são defeituosos, devido à ação, principalmente, de carrapatos e bernes, resultando na afirmação de Eggers (1983), citado por Horn & Arteché (1985) que, de cada três pares de calçados que saem do país (o Brasil é o sétimo maior produtor de calçados do mundo) mais de dois deles são fabricados com couros importados.

CICLO EVOLUTIVO

O carrapato *B. microplus* é parasita monoxeno, ou seja, utiliza um só hospedeiro em seu ciclo evolutivo que apresenta duas fases: a fase de vida livre, que se realiza no solo e, a fase parasitária, que se realiza no corpo do hospedeiro.

Em síntese, a fase não parasitária começa com a fêmea fecundada e ingurgitada que se desprende do hospedeiro, caindo ao solo, para realizar a oviposição, e termina em uma das alternativas: 1) a fêmea morre sem efetuar a oviposição ou produz ovos inférteis ou, ainda, suas larvas morrem sem alcançar um hospedeiro adequado; 2) as larvas oriundas de ovos dessa fêmea conseguem alcançar (acessam) o hospedeiro suscetível.

A fase parasitária pode ser, sumariamente, delimitada como tendo início com a fixação das larvas em hospedeiro suscetível, as quais movimentam-se sobre o mesmo por cerca de uma hora ou mais, quando então procuram fixar-se através de suas peças bucais, dando início à fase parasitária propriamente dita (Riek, 1965) e o término,

quando os adultos, incluídas as fêmeas fecundadas e ingurgitadas, caem desse hospedeiro.

Assim, o início e o término do ciclo dão-se quase sempre no pasto, onde geralmente se integram o parasito, o hospedeiro e o ambiente comum a ambos (Fig. 1).

A publicação SENASA (1992) descreve o ciclo biológico do *B. microplus* usando apenas como instares da fase adulta as fêmeas denominadas de neógina, partenógina e teleógina, sem quaisquer referências aos machos denominados de neandro e gonandro, que também fazem parte do ciclo biológico.

Atualmente, sabe-se que os instares, as formas sexuais mais evoluídas e, em especial, a partenógina e a teleógina, são as mais resistentes. O princípio geral é que a forma mais suscetível é a larva, e a teleógina a mais resistente. Além disso, é importante referir que as formas sexuais, principalmente as fêmeas, só aparecem a partir do 13º dia após a infestação. Estes dados são importantes quando se trata da escolha do intervalo entre os banhos. Deve-se evitar que os instares sexuais (menos suscetíveis) entrem em contato com os carrapaticidas (Gonzales, 1975).

ECOSSISTEMA DO *Boophilus microplus*

O equilíbrio deve ser a meta buscada pelo técnico e/ou fazendeiro. Todo desequilíbrio do sistema resulta em superpopulação do carrapato, e na superpopulação revela-se a resistência.

Na Fig. 2 traduzida de Sutherst et al. (1978), estão esboçados os principais fatores de que depende a sobrevivência do *B. microplus* em cada segmento do seu ciclo.

Na fase não parasitária, as influências do clima são significativas, ora favorecendo, ora desfavorecendo o seu desenvolvimento. Em condições de chuvas abundantes, pastos altos que produzem sombreamento e temperaturas elevadas, favorecem o período de incubação, diminuindo o seu tempo. Por outro lado, temperaturas baixas, as chuvas escassas que diminuem a quantidade de pastagem são fatores adversos ao seu desenvolvimento (Nuñez et al., 1982).

A fase parasitária, ao contrário da não parasitária, é pouco afetada pelas condições climáticas (Cotton, 1915; Legg, 1930; Hitchcock, 1955; Riek, 1965).

SITUAÇÃO DO *Boophilus microplus* EM MATO GROSSO DO SUL

A pecuária da região Centro-Oeste vem sofrendo alterações tecnológicas visando ao aumento e a precocidade de produção. Dentre estas, pode-se citar o desenvolvimento de pastagens de melhor qualidade, permitindo maior unidade animal por hectare, a introdução de raças européias, levando a uma transformação racial da região e as modernas técnicas de manejo, contribuindo para um aproveitamento racional da propriedade. Entretanto, a adoção dessas tecnologias,

associada às condições climáticas, tem favorecido a biologia do *B. microplus*, proporcionando o incremento de suas populações, bem como dos problemas causados.

Esta situação é inversa daquela verificada no Rio Grande do Sul, ainda que de forma desordenada e, da Austrália, onde o governo fornece incentivos para a introdução de raças zebuínas, ainda que em cruzamentos, visando o aumento da resistência às parasitoses.

A Embrapa Gado de Corte não poderia deixar de participar da evolução na pecuária do Brasil Central e, visando obter informações que melhor orientem os produtores, desenvolveu alguns trabalhos de pesquisa sobre a biologia do *B. microplus*. Também avaliou algumas raças européias em cruzamentos com a raça Nelore, predominante na região, com a finalidade de identificar aquela que ofereça melhores benefícios à pecuária bovina de corte no Brasil.

Um dos trabalhos desenvolvidos teve por objetivo conhecer a evolução da fase de vida livre do *B. microplus*, associando-a com as condições climáticas regional. Os resultados deste estudo estão contidos na Tabela 1.

TABELA 1. Média (dias) da fase de vida livre do *Boophilus microplus* nas épocas de seca e de chuvas em Campo Grande, MS.

Parâmetros	Média/dia/época		Média geral
	Seca	Chuva	
Pré-postura	6,7	5,0	5,9
Pré-eclosão	63,3	33,6	48,5
Longevidade larval	39,7	39,9	39,8

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se para o tempo de pré-postura (tempo decorrido entre o dia de inoculação até o dia em que as teleóginas iniciam as posturas) uma média de 5,9 dias, sendo menor no período chuvoso e maior no período seco.

Para o período de pré-eclosão (tempo decorrido entre o dia da inoculação e o dia do início da eclosão) uma média de 48,5 dias, com o mesmo comportamento do período de pré-postura, entretanto, para o período seco foi quase o dobro do chuvoso, evidenciando assim, grande influência das condições climáticas nesta fase.

Quanto à longevidade larval (período decorrido entre o início da eclosão até a última larva viva encontrada), notou-se que a maioria morria entre 20 e 30 dias, cujas médias obtidas tanto no período seco como no chuvoso foram bastante similares, de 39,7 e 39,9 dias, respectivamente.

Pelos resultados obtidos, verifica-se que a fase não parasitária do *B. microplus* na região é alterada, ora favorecida ora desfavorecida,

pelas condições climáticas, no que diz respeito principalmente à umidade relativa e temperatura ambiente.

Na adaptabilidade de animais de origem européia em regiões tropicais e subtropicais, um dos fatores consideráveis é a tolerância a endo e ectoparasitas. Com este objetivo estudou-se a incidência sazonal e intensidade parasitária do *B. microplus* em bovinos das raças Nelore e Ibagé e nos cruzamentos (F1) das raças Fleckvieh, Charolês e Chianina com a raça Nelore, sob condições extensivas de cerrado, cujos resultados estão na Tabela 2 e na Fig. 3.

TABELA 2. Números médios de *Boophilus microplus* em animais da raça Nelore, Ibagé e meio-sangue Fleckvieh, Chianina e Charolês x Nelore sob condições extensivas de pastagens no Brasil Central (Gomes et al., 1989).

Grupo genético	Nº de carrapato/dia ± SE	Limites	
		Mínimo	Máximo
Nelore	3,3 ± 0,12a	0(9x)	28
Fleckvieh x Nelore	25,2 ± 2,83c	1	76
Chianina x Nelore	22,2 ± 2,83c	1	89
Charolês x Nelore	21,0 ± 2,38c	0(1x)	58
Ibagé	59,7 ± 18,90b	0(1x)	624

Números seguidos de letras desiguais na coluna diferem estatisticamente entre si ao nível de 1%.

Pelos resultados obtidos, conclui-se que a raça Nelore possui grande resistência ao *B. microplus*; que animais meio-sangue não

apresentaram diferenças entre si quanto ao número de carrapatos, ficando numa situação intermediária, e que animais da raça Ibagé apresentaram números extremamente altos de carrapatos, comparativamente aos demais estudados.

De acordo com os valores contidos na Fig. 3, verifica-se que as maiores intensidades parasitárias foram observadas durante os meses de fevereiro a maio, com uma queda em março e durante os meses de setembro e outubro. Este último pique pode ser causado pela superposição de duas gerações. Em geral, pela distribuição dos piques populacionais, pode-se inferir que o *B. microplus* tem potencial de desenvolver até quatro gerações anuais, nos cerrados.

CONTROLE

O controle do carrapato *B. microplus* teve uma grande evolução, principalmente na Austrália e nos países da América Latina, onde se desenvolvem atividades de controle a este parasita. De acordo com Cordovés (1996), para se fazer um bom controle é necessário estabelecer conhecimentos e tecnologia como: a) conhecimento taxonômico e bioecológico do *B. microplus* nos diferentes climas e regiões; b) obtenção e desenvolvimento de cruzamentos de raças bovinas mais resistentes aos carrapatos e aos agentes produtores do complexo tristeza parasitária bovina; c) desenvolvimento de pastagens (gramíneas e leguminosas) que, de alguma forma, controlem o carrapato; d) introdução de novos

fármacos que deixem menos resíduos nos produtos de origem animal (leite, carne etc.) para o consumo humano; e) fiscalização do governo (municipal, estadual ou federal) visando o registro e controle de qualidade dos pesticidas e medicamentos veterinários; f) introdução e utilização de vacinas, inclusive biomoleculares, através de tecnologia recombinante; g) criação de um sistema funcional de vigilância sanitária e de diagnóstico precoce de cepas de *B. microplus* quimioresistentes, utilizando os serviços veterinários.

Não há uma fórmula mágica ou um método revolucionário capaz de resolver definitivamente o problema do parasitismo dos bovinos pelo *B. microplus*, mas sabe-se que uma associação de métodos alternativos de acordo com cada situação permite obter excelentes resultados e até mesmo reduzir o uso de carrapaticidas.

Segundo Gonzales (1975), faz-se necessário o combate ao *B. microplus* tanto em áreas onde se verificam grandes infestações durante todo o ano, quanto em áreas com baixa infestação mesmo que em alguma época do ano. Nas áreas com altas infestações, os danos produzidos pelo carrapato levam a grandes prejuízos e, nas áreas com baixa infestação e restrita a alguma época do ano, a importância da "tristeza parasitária" assume grandes proporções, verificando-se assim, que, em ambas as condições, o *B. microplus* é uma fonte de prejuízo à bovinocultura.

Em função do ciclo do carrapato, existem duas alternativas para o seu controle: a) fora do seu hospedeiro e b) sobre o hospedeiro.

Controle do *B. microplus* fora do hospedeiro

O controle do *B. microplus* fora do hospedeiro pode ser realizado por meio de:

- rotação de pastagens;
- controle biológico;
- utilização de pastagens com poder de repelência (antixenose)

ou capacidade letal (antibiose) ao carrapato;

- implantação de lavoura;
- queima de pastagens; e
- alteração do microclima.

A rotação de pastagens, de acordo com Wilkinson (1957), baseia-se na retirada dos bovinos das pastagens até que todas as larvas sejam eliminadas por causas naturais, ou que a maioria tenha morrido (Wharton et al., 1969). Para a utilização desta prática é necessário conhecer o período de sobrevivência das larvas nas pastagens para que se estabeleça o tempo de descanso das mesmas. Penna (1990) recomenda um tratamento acaricida nos animais antes de serem colocados em pastagens vedadas, evitando assim, a contaminação destas.

Estudando o descanso de pastagem como forma de controle do *Boophilus*, Harley & Wilkinson (1964) e Wharton et al. (1969) citam que foram necessários menos banhos acaricidas no gado europeu do que normalmente utilizados, com um descanso de pasto mínimo de 3 meses no verão e máximo de 6 meses no inverno.

Atualmente, o controle biológico utilizando insetos, nematódeos, vírus, bactérias, fungos etc., é uma alternativa que tem

despertado grande interesse às comunidades científicas, por causarem menos agressões aos animais e ao ambiente. Sua utilização reduzirá em muito a aplicação de produtos químicos, diminuindo assim, a presença de resíduos no ambiente e nos produtos de origem animal.

No controle biológico do carrapato, tem-se examinado a possibilidade do uso de predadores e parasitas, os quais ainda não foram considerados eficientes, porém, os fungos *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecani* e *Mettarhizium anisopliae* têm mostrado resultados promissores (Cordovés, 1996).

De acordo com Matthewson (1984) existem vários exemplos de predadores entre as formigas, vespas, aranhas, lagartos e pássaros. Com relação a predadores, Alves-Branco et al. (1983), no Brasil, relataram um novo componente do ecossistema do *Boophilus*, que é a *Egretta ibis*, comumente conhecida por garça-vaqueira.

As variedades de forrageiras têm influência na sobrevivência das larvas nas pastagens, pela formação de um micro ambiente, em função da forma de crescimento, desenvolvimento e, também, pela presença de características específicas que atuam sobre a larva, ora matando-a (antibiose) ora repelindo-a (antixenose). A utilização de pastagens com poder letal e ou de repelência tem-se mostrado capaz de reduzir a sobrevivência dos carrapatos, mas seu efeito é pequeno e lento. Dentre estas pastagens citam-se as gramíneas capim-gordura (*Melinis minutiflora*), *Andropogon gayanus* (Thompson et al., 1978) e *Brachiaria humidicola* (Gomes, 1986); e as leguminosas *Stylosanthes scabra* e *S. viscosa* (Sutherst et al., 1982).

A implantação de lavoura, apesar de ser utilizada com o objetivo de recuperação ou renovação de pastagens, é uma prática que indiretamente auxilia o controle do carrapato.

Outros procedimentos têm sido descritos, dentre estes citam-se a queima de pastagens, aplicação de acaricidas nas pastagens, alterações do microhabitat com roçadas etc. Porém, os resultados em uma análise mais objetiva têm revelado que tais procedimentos quase sempre se tratam de alternativas pouco seguras, não recomendadas, por outros motivos (destruição de ambiente, fauna etc.) e até mesmo antieconômicas.

Controle do *B. microplus* sobre o hospedeiro

O controle do *Boophilus* sobre o hospedeiro, isto é, na sua fase parasitária, pode ser realizado por meio de:

- feromônios associados a substâncias tóxicas;
- machos e fêmeas estéreis;
- vacinas;
- mecanismos genéticos;
- raças resistentes; e
- uso de carrapaticidas.

O uso de machos estéreis foi muito importante no controle de certos insetos como a mosca *Cochliomyia hominivorax*, nos Estados Unidos da América, México, parte da América Central e algumas ilhas do Caribe. Quanto ao *Boophilus*, o uso da esterilização é possível, entretanto, é difícil a criação em grandes quantidades e possui baixa motilidade, conseqüentemente, baixa dispersão. Além disso, existe o

fato de que uma fêmea pode copular com vários machos, de forma que a cópula com um macho estéril não influenciaria sua fertilidade, desde que ela também copulasse com machos férteis (Matthewson, 1984).

De acordo com Walker (1987), estão sendo conduzidos trabalhos para o desenvolvimento de vacina anticarrapato, cujos progressos são difíceis de relatar por serem trabalhos secretos, realizados com a colaboração de companhias de biotecnologia, que têm interesse na sua síntese e comercialização.

Atualmente, encontra-se disponível no mercado brasileiro uma vacina contra o *Boophilus microplus*, de nome comercial "GAVAC", composta de um antígeno recombinante denominado Bm86 derivado de *Pichia pastoris*, desenvolvida no Centro de Ingeniería Genética e Biotecnologia (CIGB), de Havana, Cuba e registrada naquele país em 1993. Existem informações também, de que há uma vacina de origem australiana disponível no mercado brasileiro.

Dentre as formas de combate ao *Boophilus* supracitadas, com exceção de raças resistentes e o uso de acaricidas, os demais estão em fase de experimentação e ainda não oferecem uma alternativa viável para o seu controle ou não se tem informações suficientes de sua eficácia, como é o caso da vacina desenvolvida em Cuba.

A resistência do hospedeiro tem como base a criação de raças resistentes aos carrapatos, no seu cruzamento com raças mais resistentes e, ainda, na seleção para o aumento da resistência dentro dessas raças e de seus cruzamentos.

O *B. microplus* está adaptado ao seu hospedeiro natural, o *Bos indicus*. No entanto, quando se introduz o *Bos taurus* em áreas enzoóticas para este ixodídeo, desenvolve-se nos bovinos um problema agudo em função da sua incapacidade para controlar o número de parasitas. Animais suscetíveis podem morrer caso não sejam tratados com acaricidas, mas esses produtos são de alto custo e de difícil produção, necessitando ainda de ser usados com freqüência, elevando-se os custos de produção.

Na Austrália, existe um programa de incentivo à criação de raças zebuínas ou de seus cruzamentos, como forma de combate ao carrapato dos bovinos (Powell, 1982). Este programa foi tão bem aceito que, em 60 meses (1977-1982), houve um acréscimo de 47,8% das propriedades de gado de corte que têm o zebu puro ou cruzamento como raça principal (Elder et al., 1985).

Em testes de resistência dos bovinos ao *Boophilus* através de infestações artificiais, Riek (1962) descreve dois tipos de resistência:

- a) a resistência que já está presente quando da primeira infestação, que é classificada como INATA; e
- b) a resistência ADQUIRIDA, que começa a se evidenciar depois do animal ter sido exposto a algumas infestações.

A resistência inata não depende do contato prévio do bovinos com o *B. microplus*. Os resultados obtidos por O'Kelly & Spiers (1976) mostram que na primeira exposição aos carrapatos, após o nascimento, os bezerros mestiços zebu foram mais resistentes que os de raças britânicas, apresentando uma parcela de imunidade inata. Dentre as possíveis causas da resistência inata dos bovinos têm-se: o

comprimento do pêlo (Villares, 1941; Jordão, 1981); espessura e dureza da pele (Ulloa & De Alba, 1957); glândulas sebáceas (Villares, 1941); e outras, como motilidade da pele, glândulas sudoríparas e hábitos do animal (Villares, 1941). Entretanto, Wilkinson (1962) não encontrou correlação em nenhuma dessas estruturas com a resistência dos bovinos.

Quanto à resistência adquirida observada a partir de algumas infestações, Roberts (1968) mostrou que animais sem exposição prévia ao *B. microplus*, têm alta suscetibilidade e que, após oito dias de infestações diárias, certo grau de resistência é adquirida.

Nas regiões do Brasil onde se criam a raça Nelore ou seus cruzamentos com outras raças zebuínas não existe o problema causado pelo carrapato, salvo algumas situações específicas de manejo (desmame precoce, desmame interrompido etc.). Porém, a introdução de raças taurinas, puras ou em cruzamentos com a raça Nelore, predominante da região, na busca do aumento e da precocidade de produção, poderá em curto espaço de tempo provocar um aumento de infestação pelo *B. microplus*, e conseqüentemente, a instabilidade da "tristeza parasitária bovina".

O USO DE CARRAPATICIDAS

Histórico

Na antigüidade, o homem já fazia o controle das parasitoses, empregando produtos naturais de origem vegetal e animal que

apresentavam efeito parasiticida, originando assim as primeiras terapêuticas empíricas.

No final do século XIX, o controle do *B. microplus* se fazia com o uso de extrato de nicotina, enxofre, óleos, petróleo cru etc. Nas primeiras décadas do século XX surgiram os arsenicais, com excelentes propriedades ixodicidas, iniciando assim o controle químico do carrapato. Em 1940, surgiram os organoclorados, os quais foram intensamente utilizados até os anos 60 quando foram impostas restrições ao seu uso. Surgiram, neste período, os organofosforados, cuja utilização foi muito importante no controle do carrapato. Em 1970, surgiram outros princípios ativos, como as formamidinas, as cicloamidinas e os piretróides que se caracterizam por apresentarem boa estabilidade. Além disso, apresentam baixa toxicidade, são rapidamente metabolizados e eliminados pelos mamíferos, e são de rápida degradação no solo. Mais recentemente, outros grupos como o benzoil fenil uréia e as avermectinas, foram lançados no mercado, como mais uma alternativa para o controle do *B. microplus*.

De acordo com Arteché (1975), um bom carrapaticida deve ter as seguintes características:

- ser eficiente na intoxicação de todos os estádios parasitários, inclusive postura fértil;
- não ser tóxico aos hospedeiros;
- possuir efeito residual; e
- ser econômico.

Aplicação dos carrapaticidas

A aplicação dos carrapaticidas se faz através de pulverização, imersão, dorsal (pour-on) e outras formas. Cada método apresenta suas vantagens e desvantagens e a sua escolha depende da região, tipo de criação, manejo etc. (Thiesen, 1973).

Os banhos de imersão são realizados através de banheiros carrapaticidas e são mais utilizados no RS, principalmente, em grandes propriedades.

Os banhos de imersão têm como vantagens:

- facilidade para grandes rebanhos;
- não requer pessoal especializado; e
- ausência de aparelhos mecânicos.

Como desvantagens:

- construção onerosa;
- permite acúmulo de detritos;
- possibilita acidentes; e
- necessita de grande volume de água.

As pulverizações podem ser realizadas por aplicação manual ou mecânica e são mais utilizadas nas regiões leiteiras dos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais.

A pulverização manual pode ser realizada por pulverizadores costal ou de outros tipos, e a mecânica, através de bretes aspersores ou pulverizadores motorizados.

As pulverizações manuais são mais indicadas para pequenas propriedades, isto é, para poucos animais. É um processo barato, permite a utilização de calda nova e possibilita troca do produto.

Entretanto, permite falha do operador, do pulverizador, e ainda é um processo demorado.

Os pulverizadores mecânicos apresentam como vantagens:

- carga sempre nova;
- evitam acidentes; e
- requerem menor número de pessoas.

Como desvantagens possuem:

- exigência de pessoal especializado;
- defeitos mecânicos;
- consumo de combustível ou energia elétrica; e
- vício pelos animais.

As aplicações pelo método dorsal (pour-on) também apresentam vantagens e desvantagens.

Como vantagens possuem:

- facilidade e rapidez na aplicação;
- não exigem a contenção do animal;
- não apresentam risco ao operador; e
- asseguram o uso na dose correta.

A desvantagem se traduz pelo alto custo por aplicação.

Em qualquer dos métodos empregados: pulverização, imersão ou dorsal, é de fundamental importância que se realizem os banhos com intervalos de 14 ou 21 dias. O número de banhos com estes intervalos vai depender da redução almejada e densidade populacional. A Fig. 3 mostra a relação entre o ciclo parasitário do *B. microplus* e o intervalo de banho.

Com as últimas gerações dos produtos químicos antiparasitários, o carrapaticida (grupo benzoil fenil uréia) e os endectocidas (grupo das avermectinas), tem-se novas alternativas de combate ao *B. microplus*, porém com suas vantagens e desvantagens.

Nas áreas tropicais, os carrapatos são menos vulneráveis, uma vez que a sua reprodução é contínua. Neste caso, são recomendados banhos planejados, associados à rotação de pastagens e à resistência genética dos bovinos, para um perfeito controle do *B. microplus*.

O poder residual do produto depende de inúmeros fatores que podem aumentá-lo ou diminuí-lo. Estes fatores são:

- princípio ativo;
- movimento de calda;
- calor;
- chuva;
- frequência de banhos; e
- comprimento dos pêlos.

RESISTÊNCIA

Introdução

Resistência aos carrapaticidas é o aparecimento de carrapatos com habilidade de tolerar doses tóxicas que provaram ser letais para a maioria dos indivíduos em uma população normal da mesma espécie.

De acordo com Thiesen (1979), o fenômeno de resistência é decorrente da seleção de indivíduos em uma espécie. Não pode ser induzida pela exposição a baixas concentrações dos inseticidas, uma

vez que estes não produzem mudanças genéticas, mas os genes responsáveis pela resistência, presentes em baixa frequência na população antes do carrapaticida ser aplicado, têm suas frequências aumentadas.

Estudos sobre os mecanismos fisiológicos da resistência revelam que estes compreendem uma série de defesas orgânicas dos insetos aos inseticidas, dentre as quais destacam-se como principal a detoxicação por meio de sistemas de enzimas.

Mecanismos da resistência

Os mecanismos pelos quais o *B. microplus* desenvolve a resistência, de acordo com Nuñez et al. (1982), podem se classificar em três grupos principais:

- 1) alteração das propriedades do acaricida no local de ação;
- 2) alteração da taxa de metabolismo do ixodicida; e
- 3) alteração em sua taxa de veiculação. Este grupo, apesar de não ter o mecanismo muito demonstrado em função da reduzida quantidade de casos estudados, é considerado potencialmente de grande importância.

Situação atual da resistência

Nos dias atuais, pode-se dizer que a maioria dos grandes grupos químicos foram suplantados pelo desenvolvimento de estirpes resistentes de *B. microplus*, segundo vários autores (Freire, 1953; Shaw, 1966; Wharton & Roulston, 1970; Arteche, 1972; Wharton, 1976).

Para os piretróides, uma das últimas gerações de carrapaticidas colocados no mercado a partir de 1970, já existe conhecimento de que, na Austrália, há resistência cruzada entre o permetrin e o DDT (Nolan et al., 1977). No Brasil, Laranja et al. (1989) identificaram uma estirpe resistente a carrapaticidas piretróides (cipermetrin, decametrina, flumetrina e cialotrin), no Estado do Rio Grande do Sul.

A única forma prática e eficaz de controle do carrapato era, e continua sendo, a utilização de substâncias tóxicas, ou carrapaticidas, empregados sob formas e meios diversos sobre os carrapatos durante a fase parasitária, induzindo-os à morte ou à interrupção de seu ciclo biológico (Arteche, 1979).

A forma de evitar insucessos com a utilização de carrapaticidas, evitando assim prejuízos econômicos, é através da aplicação de testes de sensibilidade dos carrapatos aos carrapaticidas, denominado de "testes de biocarrapaticidograma".

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O combate ao *B. microplus* tem-se verificado, na maioria das vezes, de forma inadequada, devido ao pouco conhecimento, em especial, de sua biologia e das formas componentes do seu ecossistema. Este combate tem-se realizado quase que exclusivamente na sua fase parasitária.

Por outro lado, seria muito interessante, sob o ponto de vista ecológico, a adoção de outras medidas de combate ao *B. microplus*. Dentre estas, podem-se citar as formas naturais de combate, tais como, controle biológico utilizando os inimigos naturais do parasito, aliado ao manejo de pastagens e ou de pastagens cultivadas que auxiliem neste controle, e ainda a utilização de animais e raças mais resistentes, procurando sempre reduzir, ao mínimo, o uso de carrapaticidas. Como resultados destas medidas, ter-se-ia um controle mais econômico, com menor prejuízo ao ambiente.

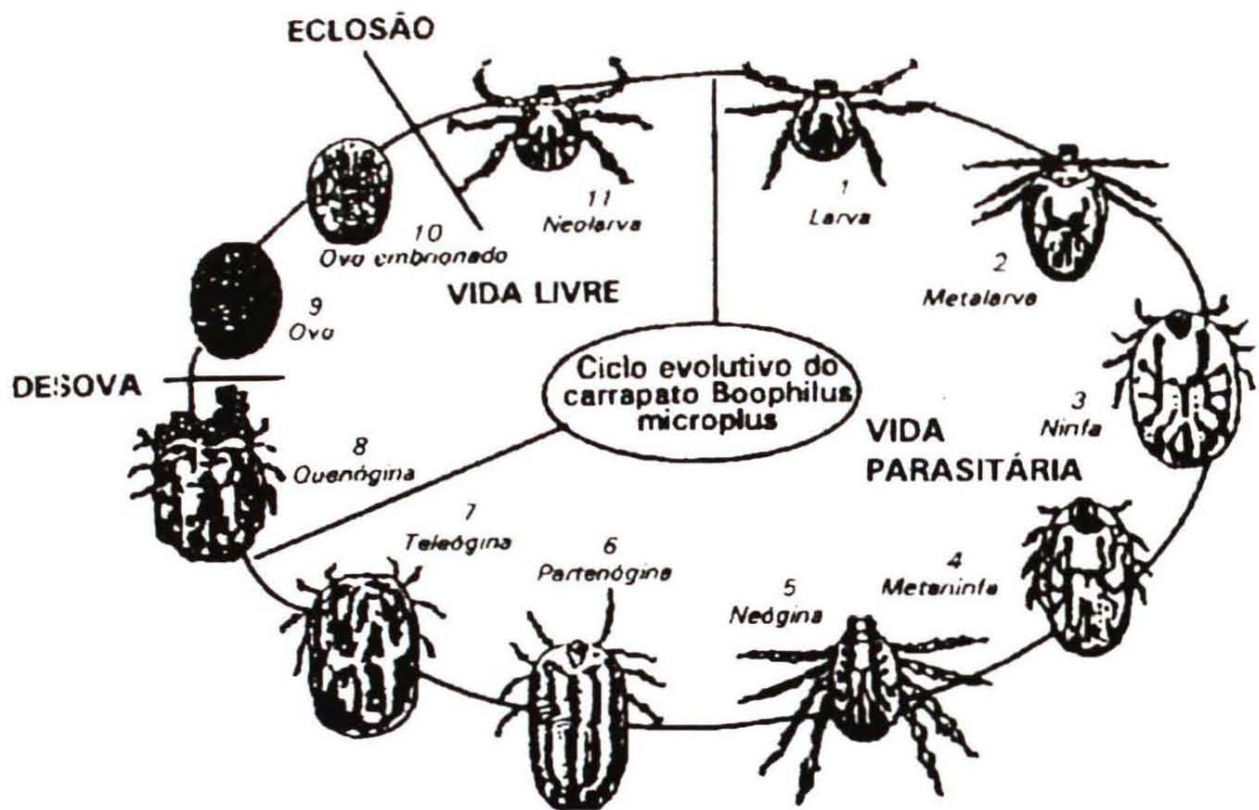


FIG. 1. O ciclo de vida do *Boophilus microplus*.

Fonte: SENASA (1992).

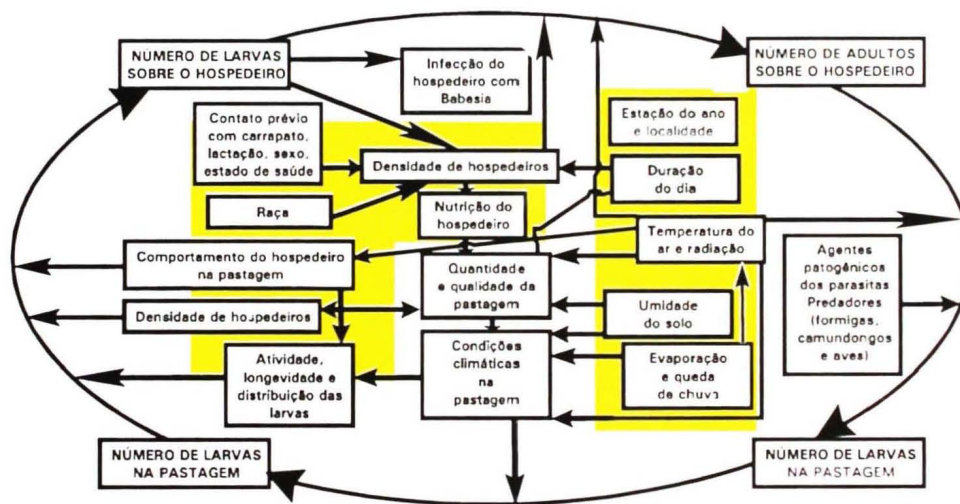


FIG. 2. Fatores que afetam o ciclo evolutivo do *B. microplus*.
 Fonte: Sutherst et al. (1978).

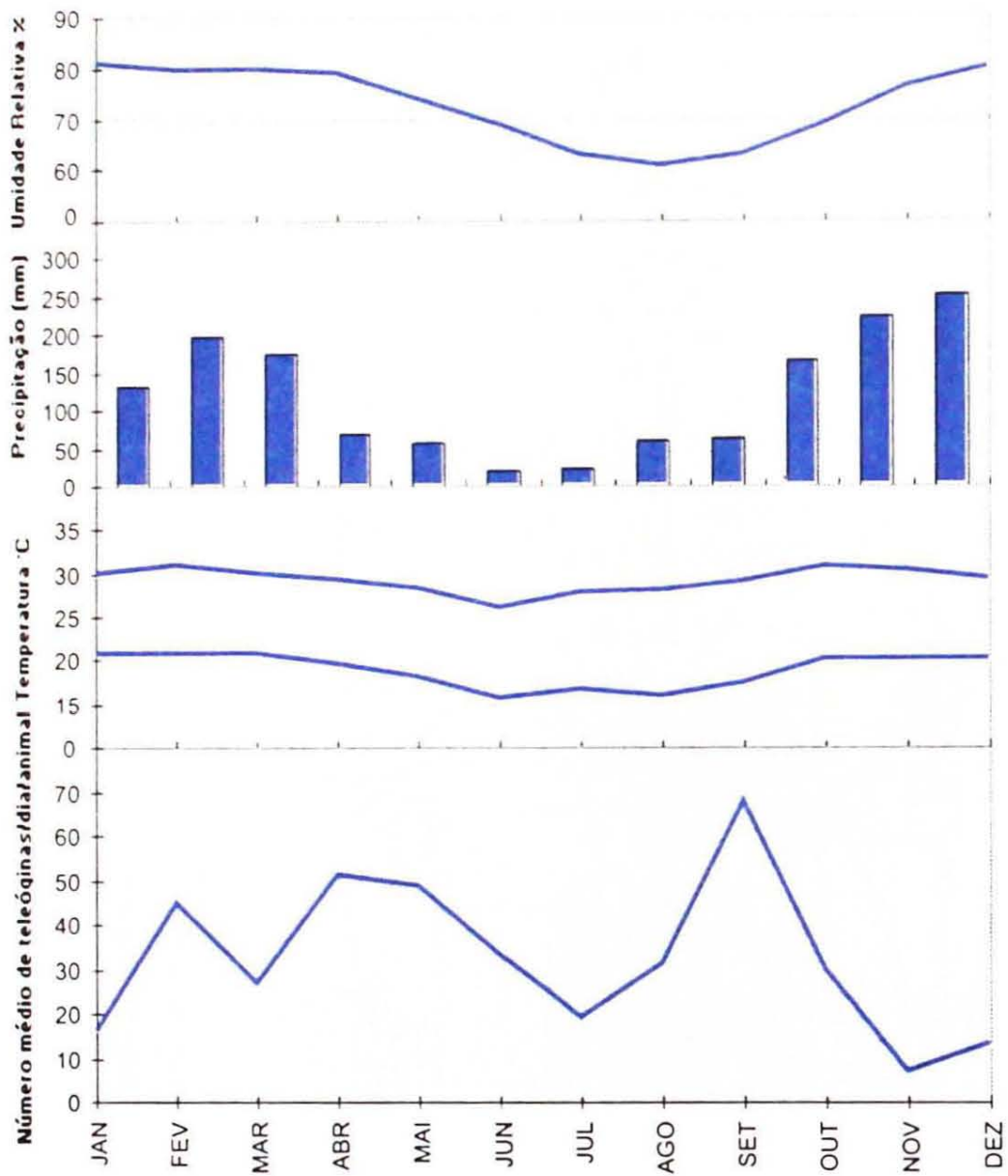
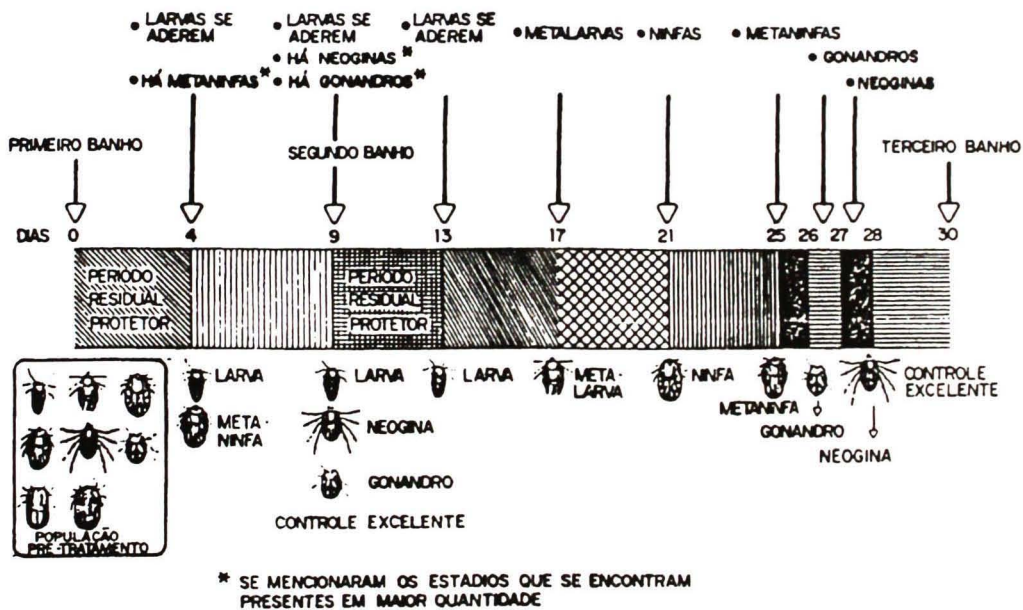


FIG. 3. Números médios mensais de teleóginas em bovinos de diferentes raças e cruzamentos e dados meteorológicos (média de 1983 a 1985) da região de Campo Grande, MS.



Fonte: NUÑEZ et al. 1982

FIG. 4. Relação entre o ciclo parasitário do *B. microplus* e os intervalos de banhos.

Fonte: Nuñez et al. (1982).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES-BRANCO, F.P.; ECHEVARRIA, F.A.; SIQUEIRA, A.S. **Garça vaqueira (*Egretta ibis*) e controle biológico do carrapato *Boophilus microplus***. Bagé : EMBRAPA-UEPAE de Bagé, 1983. 4p. (EMBRAPA-UEPAE de Bagé. Comunicado Técnico, 1).
- ARTECHE, C.C.P. Contribuição ao estudo do combate ao *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888) no Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias "Desidério Finamor"**, Porto Alegre, n.1, p.74-80, 1972.
- ARTECHE, C.C.P. **Curso extraordinário sobre biologia dos carrapatos e testes carrapaticidas**. Santa Maria : UFSM, 1975. 16p.
- ARTECHE, C.C.P. **Controle do carrapato dos bovinos no Rio Grande do Sul**. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE PARASITÓSES DOS BOVINOS, 1., 1979, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande : EMBRAPA-CNPGC, 1979. p.231-249.
- BELTRAN, L.C. Características de la campaña nacional mexicana contra la garrapata. In: WORKSHOP ON ECTOPARASITES, Cali, 1975, CIAT, pp.77-96 (Séries CE-13), 1977.
- BERGUE DE GRILLO TORRADO, C.E. La garrapata común del vacuno; sus problemas. **Revista de Medicina Veterinária**, Buenos Aires, v.50, n.6, p.387-395, 1976.

- CORDOVÉS, C.O. **Carrapato controle ou erradicação**. Alegrete, Ed. Gralha, 130p., 1996.
- COTTON, E.C. The Nort Americam fever tick. **Bull. Tenn. Agric. Exp. Sta.**, v.113, p.33-67, 1915.
- ELDER, J.K.; HASS, C.R.; REID, T.J.; KEARNAN, J.F.; EMMERSON, F.R. Changes in cattle tick control practices in south eastern Queensland from 1977 to 1982. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v.62, n.7, p.218-222, 1985.
- FREIRE, J.J. Arseno e cloro resistência e emprego do thiofosfato de dietilparanitrofenila (Parathion) na luta anticarrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888). **Boletim da Diretoria da Produção Animal**, Porto Alegre, v.9, p.3-31, 1953.
- GOMES, A. Epidemiologia do *Boophilus microplus* nas condições de cerrado brasileiro. In: SEMINÁRIO CARRAPATOS, DOENÇAS TRANSMITIDAS POR CARRAPATOS E INSETOS NOCIVOS AOS BOVINOS NOS PAÍSES SUL AMERICANOS DO CONE SUL, 2., Progressos desde 1983, Porto Alegre, 1986. **Anais...** Porto Alegre, 1986. p.13. Resumo.
- GOMES, A.; HONER, M.R.; SCHENK, M.A.; CURVO, J.B.E. Populations of the cattle tick (*Boophilus microplus*) on purebred Nellore, Ibagé and Nellore x European crossbreds in the Brazilian Savanna. **Tropical Animal Health Production**, v.21, p.20-24, 1989.

- GONZALES, J.C. **O controle do carrapato dos bovinos**. Porto Alegre : Sulina, 1975. 103p.
- GONZALES, J.C.; SERRA-FREIRE, N.M. O couro dos bovinos do Rio Grande do Sul: riqueza há muito maltratada. **A Hora Veterinária**, v.12, n.69, p.14-16, 1992.
- HARLEY, K.L.S.; WILKINSON, P.R. A comparison of cattle tick control by "conventional" acaricidal treatment, planned dipping and pasture spelling. **Australian Journal Agricultural Research**, Victoria, v.15, n.5, p.841-53, 1964.
- HORN, S.C.; ARTECHE, C.C.P. Situação parasitária da pecuária no Brasil. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v.4, n.23, p.13-32, 1985.
- JORDÃO, L.P. Técnica elimina carrapato. **O Produtor de Leite**, Rio de Janeiro, v.1, n.66, p.24, 1981.
- LARANJA, R.S.; MARTINS, J.R.; CERESER, V.H.; CORREA, B.L.; FERRAZ, C. Identificação de uma estirpe de *Boophilus microplus* resistente a carrapaticidas piretróides, no Estado do Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 6., 1989, Bagé. **Anais...** Bagé : Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1989. p.83.
- LEGG, J. Some observations on life history of the cattle tick. (*Boophilus australis*). **Proc. R. Soc. Qd.**, v.41, p.121-132, 1930.

- MATTHEWSON, M.D. The future of tick control: a review of the chemical and non chemical options. **Preventive Veterinary Medicine**, Queensland, v.2, p.559-568, 1984.
- NOLAN, J.; ROULSTON, W.J.; WHARTON, R.H. Resistance to synthetic pyrethroids in a DDT resistant strain of *Boophilus microplus*. **Pesticide Science**, Oxford, v.8, n.5, p.484-486, 1977.
- NUÑEZ, J.L.; MUÑOZ, M.E.; MOLTEDO, H.L. *Boophilus microplus* la garrapata comum del ganado vacuno. Buenos Aires : Hemisferio Sur, 1982. 184p.
- O'KELLY, J.C.; SPIERS, W.C. Resistance of *Boophilus microplus* (Canestrini) in genetically different types of calves in early live. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.62, n.2, p.312-317, 1976.
- POWELL, R.T. Project tick control. **Queensland Agricultural Journal**, Brisbane, v.108, n.6, p.279-300, 1982.
- PENNA, V.M. *Boophilus microplus*: A resistência genética do hospedeiro como forma de controle. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v.4, p.3-63, 1990.
- RIEK, R.F. Studies on the reaction of animals infestation with the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agriculture Research**, Melbourne, v.13, p.532-535, 1962.

- ROBERTS, J.A. Acquisition by the host of resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.54, p.657-662, 1968.
- SENASA. Informe Técnico: La garrapata *Boophilus microplus*, 1992. 20p. (SENASA. Publicacion, 6).
- SHAW, R.D. Culture of na organo-phosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can) and na assessment of its resistance spectrum. **Bulletin of Entomological Research**, London, v.56, n.3, p.389-405, 1966.
- SUTHERST, R.W.; WHARTON, R.H.; UTECH, K.B.W. Guide to studies on tick ecology. Melbourne : C.S.I.R.O., 1978, 59p. (C.S.I.R.O. Division of Entomology. Technical Paper, 14).
- SUTHERST, R.W.; JONES, R.J.; SCHNITZERLING, H.J. Tropical legumes of genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. **Nature**, London, v.295, n.5847, p.320-321, 1982.
- THIESEN, W.L. Biologia do carrapato *Boophilus microplus*. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE PARASITOSSES DOS BOVINOS, 1., 1979, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande : EMBRAPA-CNPGC, 1979. p.207-215.
- THIESEN, W.L. Carrapatos e carrapaticidas. **A Granja**, Porto Alegre, v.29, n.301, p.22-26, 1973.

- THOMPSON, K.C.; ROA, E.J.; ROMERO, N.T. Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control packages. **Tropical Animal Health Production**, Edinburg, v.10, p.179-182, 1978.
- ULLOA, G.; DE ALBA, J. Resistencia a los parasitos externos en algunas razas de bovinos. **Turrialba**, San Jose, v.7, p.8-12, 1957.
- VILLARES, J.B. Climatologia zootécnica. III. Contribuição ao estudo da resistência e susceptibilidade genética dos bovinos ao *Boophilus microplus*. **Boletim de Indústria Animal**, São Paulo, v.4, n.1, p.60-81, 1941.
- WALKER, R. Estudios inmunologicos en relacion al control de garrapatas. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE MEDICINA BOVINA, 4., 1987. **Memórias**, [S.l.:s.n.], 1987. p.80-87.
- WHARTON, R.H.; HARLEY, K.L.S.; WILKINSON, R.P.; UTECH, K.B.W.; KELLY, B.N. A comparison of cattle tick control by pasture spelling planned dipping and tick-resistance cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.20, p.783-793, 1969.
- WHARTON, R.H.; ROULSTON, W.J. Resistance of ticks to chemicals. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.15, p.381-404, 1970.

- WHARTON, R.H. Ticks with special emphasis on *Boophilus microplus*
In: PAL, R. & WHARTON, R.H. Control of arthropods of medical and veterinary importance. London : Plenum Press, 1974.
- WHARTON, R.H. Enfermedades del ganado transmitidas por las garrapatas y sus vectores. 5. Resistencia a los acaricidas. **Revista Mundial de Zootecnia**, Roma, v.20, p.8-15, 1976.
- WHARTON, R.H.; ROULSTON, W.J. Acaricide resistance in *Boophilus microplus* in Australia. In: WORKSHOP ON HEMOPARASITES, Cali, 1975, CIAT, (Séries CE-12). p.73-92, 1977.
- WILKINSON, P.R. Selection of cattle for tick resistance and the effect of herds of different susceptibility on *Boophilus* populations. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.13, p.974-983, 1962.
- WILKINSON, P.R. The spelling of pastures in cattle tick control. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.8, p.414-423, 1957.

O antibiótico
para bovinos
que veio
do **FUTURO.**


NOVO!

Nuflor*

F L O R F E N I C O L

- Nos casos de *Pneumonias, Infecções de casco e de umbigo, Diarréias e outras infecções do rebanho*
- *Baixa a febre rapidamente*



 Schering-Plough Veterinária
PESQUISA E QUALIDADE TOTAL

Central
de Atendimento
0800-117788
 Schering-Plough
Ca. Postal 18388 - CEP 04899-970



Se o animal corre risco de não estar vivo daqui a algumas horas...

... O que você precisa é rapidez.

Betaciclina*

Oxitetraciclina + Betametasona

Ação Super Rápida

A Oxitetraciclina (antibiótico) combate a bactéria que provoca a infecção. A Betametasona (anti-inflamatório) favorece uma ação super rápida, reduz a hemólise (melhora a resistência da membrana da hemácia), abaixa a febre, facilita a penetração do antibiótico no local da infecção, elimina os riscos de reações locais e de choque, além de acelerar a recuperação do animal

Rapidez

Especialmente formulada para uso intravenoso

Potência

50 mg de Oxitetraciclina em cada ml

Eficiência

Associado a Betametasona (anti-inflamatório)

ANTIBIÓTICO
+
ANTIINFLAMATÓRIO



BETACICLINA - Indicada para Bovinos, Equinos, Suínos e Ovinos

Indicações: Anaplasmosse (Tristeza Parasitária), Leptospirose, Garrotilho, Infecções de Casco e Umbigo e outras infecções.

Dosagem : 3 ml / 50 kg
via I.V. ou I.M.

Apresentação : 20 ml
Pronta para uso

* Consultar o Médico Veterinário é indispensável para o uso correto de qualquer medicamento em seu animal.



Central
de Atendimento
0800-117788
Schering-Plough
Cx. Postal 18388 - CEP 04699-970

 **Schering-Plough Veterinária**
PESQUISA E QUALIDADE TOTAL



TRISTEZA PARASITÁRIA DOS BOVINOS

TRISTEZA PARASITÁRIA DOS BOVINOS (TPB): CONCEITO, ETIOLOGIA, TRANSMISSÃO, EPIDEMIOLOGIA, DIAGNÓSTICO E CONTROLE

Raul Henrique Kessler¹

Maria Aparecida M. Schenk²

CONCEITO

Tristeza parasitária dos bovinos (TPB) é nome comum das doenças causadas por protozoários do gênero *Babesia* e rickettsias do gênero *Anaplasma* que se manifesta, clinicamente, por febre, anemia, hemoglobinúria, icterícia, anorexia, hemaciação e alta mortalidade entre bovinos sensíveis.

ETIOLOGIA

São reconhecidas seis espécies de *Babesia* parasitas de bovinos (Friedhoff, 1988) e duas espécies de *Anaplasma* (Ristic, 1977).

¹ Méd.-Vet., Ph.D., CRMV-MS nº 0575, Embrapa Gado de Corte, Caixa Postal 154, 79002-970 Campo Grande, MS.

² Méda.-Veta., M.Sc., CRMV-MS nº 0157, Embrapa Gado de Corte.

- ⇒ *B. bigemina* (Smith & Kilborne, 1893), transmitida pelos carrapatos *Boophilus microplus* (América, África e Austrália), *B. decoloratus* (África), *B. annulatus* (América do Norte) e *Rhipicephalus evertsi* (África).
- ⇒ *B. bovis* (Babés, 1888), transmitida por *Boophilus microplus* (América, África e Austrália), *B. annulatus* (América do Norte, Europa e Ásia), *B. geigy* (África) e *R. bursa* (Europa).
- ⇒ *B. divergens* (M'Faydean & Stockman, 1911), transmitida por *Ixodes ricinus* e *I. persulcatus* (Europa).
- ⇒ *B. major* (Sergent, Parrot, Lestoquard & Planturreaux, 1926), transmitida pelo *Haemaphysalis punctata* (Europa).
- ⇒ *B. beliceri** (Abramov & D'Yakonov, 1974), transmitido pelo *Hyalomma anatolicum* (Rússia).
- ⇒ *B. occultans** (Gray & de Vos, 1981), transmitida pelo *Hyalomma marginatum rufipes* (África do Sul).
- ⇒ *B. ovata* (Minami & Ishikara, 1980), transmitida pelo *Haemaphysalis longicornis* (Japão).

* Segundo Friedhoff (1988), a validade da espécie *B. occultans* está em estudo. Caso for considerada idêntica à *B. beliceri*, então *B. beliceri* deverá ter prioridade.

- ⇒ *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910), transmitido pelos carrapatos *B. microplus* (América, África e Austrália), *Dermacentor andersoni*, *D. variabilis* e *D. occidentalis* (América do Norte) e, provavelmente, outros carrapatos como o *R. simus*, na África do Sul e por insetos hematófagos dos gêneros *Tabanus*, *Stomoxys*, *Haematobia*, *Psorophora* e, provavelmente, outros.

⇒ *Anaplasma centrale* (Theiler, 1911), responsável por uma forma benigna de anaplasmosose na África do Sul e utilizada em vários países para a imunização contra o *A. marginale*.

No Brasil os agentes da babesiose são a *B. bovis* e a *B. bigemina* e, da anaplasmosose, o *A. marginale*. O principal vetor destes hemoparasitos é o carrapato *B. microplus*.

TRANSMISSÃO

Babesiose

A babesiose é transmitida, biologicamente, somente pelos carrapatos. Transmissão mecânica ocorre, também, por transfusão de sangue.

Para se entender a transmissão da babesiose, pelo carrapato, é interessante conhecer, resumidamente, o ciclo de vida destes parasitos, no carrapato e no bovino, conforme descrito por Friedhoff (1988).

As babesias fazem parte de seu ciclo evolutivo, inclusive a reprodução sexuada, no carrapato vetor que, por isto, é denominado vetor biológico. A fêmea adulta se infecta nas últimas horas do ingurgitamento. No intestino do carrapato, os parasitos se transformam em gametas que se fundem dando origem aos zigotos que penetram nas células epiteliais onde iniciam a divisão, por esquizogonia, dando origem a esporocinetos ou merozoítos. Estes invadem a hemolinfa, e iniciam ciclos de fissão múltipla nos diversos órgãos da fêmea ingurgitada, inclusive no ovário, indo infectar parte dos oocitos. Quando as larvas originárias dos ovos infectados começam a se alimentar, no

bovino, a multiplicação continua, nas células epiteliais das glândulas salivares, dando origem aos esporozoítos que serão inoculados, através da saliva, no bovino. Daí por diante, o parasito se multiplica por fissão binária, dentro dos eritrócitos. O esporozoíto, invadindo o eritrócito, se transforma em um trofozoíto que, por fissão binária, dará origem a dois merozoítos. Estes rompem a célula hospedeira e cada um irá penetrar em outro eritrócito, dando origem a dois novos merozoítos.

O ciclo da *B. bovis*, no carrapato, termina no final da fase de larva, isto é, esta espécie só é transmitida, pelo carrapato, durante o estágio de larva (Mahoney & Mirre, 1979). A *B. bigemina* tem um ciclo mais longo, sendo transmitida a partir do estágio de ninfa, até parte do estágio adulto (Callow & Hoyte, 1961).

Resumindo, a transmissão das *Babesia* spp. é transovariana, no carrapato. No bovino a *B. bovis* é transmitida pelas larvas e a *B. bigemina* pelas ninfas e adultos iniciais. A transmissão do bovino para o carrapato se dá na fase final do ingurgitamento.

O período de incubação da babesiose varia de 7 a 14 dias, podendo ser mais curto ou mais longo, dependendo da taxa de inoculação e da sensibilidade do hospedeiro.

Anaplasnose

Embora os carrapatos sejam considerados como os principais transmissores da anaplasnose, seu mecanismo de transmissão não está ainda bem definido. O *A. marginale* é uma rickettsia, portanto, um procariote, como as bactérias. Assim como as *Babesia* spp., é um parasito intracelular obrigatório. Kocan et al. (1980a e 1980b) demonstraram a infecção e a multiplicação do *A. marginale* em células

do epitélio intestinal dos carrapatos *Dermacentor andersoni* e *D. variabilis*, considerados os principais transmissores da anaplasmosose nos EUA. Ribeiro (1991), no Brasil, demonstrou a infecção e formação de colônias do *A. marginale* no intestino do *B. microplus*.

Após serem inoculados no bovino, os corpúsculos iniciais aderem à superfície dos eritrócitos. A entrada ocorre por invaginação da membrana citoplasmática, com a subsequente formação de um vacúolo parasitóforo. Daí por diante o corpúsculo inicial se multiplica por fissão binária, resultando em um corpo de inclusão com 4 a 8 corpúsculos iniciais (Ristic, 1977). Estes corpúsculos irão, então, invadir outros eritrócitos. Esta multiplicação prossegue até a morte do hospedeiro ou o controle da infecção pelos mecanismos da resposta imune. O carrapato pode se infectar em qualquer estágio. A transmissão para o bovino ocorre, normalmente, de estágio para estágio, sendo que os carrapatos machos, por sua maior mobilidade e longevidade, são considerados mais importantes na transmissão da anaplasmosose. A transmissão transovariana, pelo carrapato, tem sido publicada por alguns autores (Rosenbusch & Gonzales, 1927; Brumpt, 1931; Laranja et al., 1975), porém, parece não ser um modo de transmissão que ocorre com frequência. O modo de transmissão pelos insetos hematófagos, apesar de admitida por muitos autores, não tem seu mecanismo bem esclarecido.

O período de incubação da anaplasmosose por *A. marginale* é de 21 a 35 dias, concorrendo com a manifestação de sintomas clínicos. Este período pode variar, também, de acordo com a taxa de inoculação e sensibilidade do hospedeiro. A infecção por *A. centrale* apresenta um período de incubação, mais longo, em torno de 42 dias.

EPIDEMIOLOGIA

A babesiose por *B. bigemina* e *B. bovis* ocorre nas Américas do Sul, Central e do Norte, Europa, Ásia, África e Austrália. A anaplasmosose ocorre nas Américas do Sul, Central e do Norte, África e Austrália.

São consideradas, entre as doenças tropicais, restritas entre os paralelos 32° Norte e Sul, e a altitudes inferiores a 1200 m. Estas condições estão relacionadas com as condições epidemiológicas favoráveis ao carrapato vetor. A temperatura ambiente é um fator preponderante para o desenvolvimento do carrapato e, conseqüentemente, para a situação epidemiológica da babesiose e da anaplasmosose.

No Brasil, são endêmicas na maior parte do território onde se criam bovinos. Na região Sul encontram-se áreas livres, no extremo sul do Estado do Rio Grande do Sul, nos municípios de Sta. Vitória do Palmar, Jaguarão e Arroio Grande. Áreas de instabilidade endêmica são encontradas na fronteira do Rio Grande do Sul com o Uruguai e no planalto do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. No Nordeste, devido à seca, criam-se áreas de instabilidade no sertão da Bahia, Pernambuco e Ceará. Nas demais áreas, devido às condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do carrapato, durante todo o ano, a situação é de estabilidade endêmica. Esta estabilidade, porém, pode ser quebrada por programas de controle intensivo do vetor.

Assim, no Brasil tem-se três situações epidemiológicas distintas, com relação ao carrapato e à TPB: situação livre, onde as

condições climáticas, na maior parte do ano, não são favoráveis ao desenvolvimento do carrapato; situação de instabilidade endêmica, em que o carrapato interrompe seu ciclo por um período de 2 a 3 meses, devido a condições climáticas desfavoráveis e situação de estabilidade endêmica, em que as condições climáticas são favoráveis ao desenvolvimento do carrapato durante todo o ano.

Os bovinos nascidos em regiões livres do carrapato são sensíveis à TPB. Em regiões de instabilidade endêmica, muitos bezerros nascem no período em que não há carrapatos, assim, ao perderem a proteção dos anticorpos colostrais, tornam-se totalmente sensíveis à doença. Nas regiões de estabilidade endêmica, os bezerros são infectados pelos agentes da TPB durante os primeiros dias de vida quando possuem imunidade passiva, transmitida pelas vacas através do colostro. Ocorrem casos clínicos de baixa gravidade até os quatro meses de idade. Os bezerros, sendo reinfectedos repetidamente, neste período, desenvolvem a imunidade ativa que garantirá sua proteção contra a doença durante a idade adulta. No Mato Grosso do Sul, verificou-se que o período crítico que coincide com os mais baixos títulos de anticorpos no soro dos bezerros, está entre os 28 e 56 dias de idade para *B. bigemina* e 56 a 84 dias de idade para *B. bovis* (Madruga et al., 1984). Para a anaplasmose o período crítico está em torno de 60 dias de vida (Madruga et al., 1985). Entretanto, são encontrados casos clínicos fatais em bezerros mais jovens (Kessler et al., 1983).

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico é baseado na anamnese, na apresentação e nos sintomas.

Ao se fazer a anamnese, têm-se informações da origem, raça e idade dos animais doentes. Se os animais forem importados de áreas livres ou de instabilidade endêmica há grande probabilidade de tratar-se de TPB, caso os sintomas sejam sugestivos. Estes animais irão apresentar os primeiros sintomas 7 a 14 dias após serem expostos à infestação pelos carrapatos. Bovinos das raças européias são mais sensíveis que os zebuínos. Tratando-se de animais nativos, sabe-se que os bezerros, obrigatoriamente, passam por períodos críticos até a consolidação da imunidade ativa. Além disto, animais submetidos a condições estressantes, como viagens longas, desmama, castração, podem sofrer recidiva, principalmente, de anaplasiose.

Sintomas como febre, anemia, icterícia, hemaciação, pêlos arrepiados, são sugestivos de TPB, porém, não patognomônicos. A babesiose por *B. bigemina* se caracteriza por febre e anemia hemolítica, com hemoglobinúria. As mucosas ocular, vaginal ou prepucial estarão pálidas, podendo apresentar-se levemente amareladas (ictéricas). Na babesiose por *B. bovis* a doença se manifesta geralmente na forma aguda ou superaguda, podendo o animal morrer em poucas horas após a manifestação dos sintomas. Na forma aguda encontram-se sintomas semelhantes aos que ocorrem nos casos por *B. bigemina*. Entretanto, este hemoparasito, entre outras reações, provoca modificações nos eritrócitos fazendo-os

acumular-se nos capilares dos órgãos internos, dificultando a circulação e conseqüentemente a oxigenação, provocando sintomas nervosos semelhantes aos da raiva. Nos casos superagudos, as mucosas estarão congestionadas. Isto irá ser confirmado na necropsia pela congestão dos órgãos internos. A anaplasnose, em geral, se manifesta de forma crônica. Ao ser percebida, o animal já apresenta profunda anemia. As mucosas estão pálidas, porém, não ocorre hemoglobinúria.

O diagnóstico clínico deve sempre ser confirmado pelo diagnóstico laboratorial, em virtude da diferença de sensibilidade aos medicamentos e da possibilidade de confusão com outras doenças. Mais detalhes sobre o diagnóstico diferencial serão encontrados no capítulo "Diagnóstico anatomopatológico da tristeza parasitária bovina".

O diagnóstico sorológico é muito importante para verificar-se a situação imunológica da população alvo. Ela determinará as medidas preventivas adequadas. O capítulo "Diagnóstico sorológico da tristeza parasitária bovina" trata deste assunto com detalhes.

CONTROLE

Em áreas de estabilidade endêmica, o controle é baseado na manutenção do equilíbrio endêmico. Sabe-se que o carrapato é, por si só, um parasito que causa grandes prejuízos ao hospedeiro. Entretanto, seu controle deve ser feito de modo a permitir um certo nível de parasitismo que permita que todos os bezerros sejam

inoculados com os agentes da TPB, antes do desaparecimento da imunidade passiva. O excesso de carrapatos, além de causar anemia, pode causar imunossupressão, levando a recidivas, principalmente, de anaplasmose.

Em situações de instabilidade endêmica ou na importação de bovinos de áreas livres o controle deve ser baseado na vacinação da população em risco. Neste caso, os animais a serem vacinados devem ser mantidos livres de carrapato durante o período de reação vacinal.

Premunicação x Vacinação

O termo vacina foi criado a partir da descoberta, por Jenner, em 1796, que material extraído de feridas nos tetos das vacas, causadas pela "cowpox" (varíola animal), sendo inoculado em humanos, causava uma infecção benigna e protegia contra "smallpox" ou varíola (Jacobi, 1969).

Premunicação é um termo introduzido por Sergent et al. (1924), que significa imunidade concomitante. Estes pesquisadores, em seus estudos sobre a TPB, concluíram que os animais, após se recuperarem de uma infecção primária pelos agentes da TPB, permaneciam portadores crônicos e que a imunidade permanecia enquanto era mantido este estado de portador. Uma vez eliminado o parasito, o animal perdia a imunidade, isto é, tornava-se, novamente sensível à doença. Este conceito foi acolhido pela maioria dos pesquisadores e veterinários, tornando-se, assim, universal.

Baseados no exposto acima, pode-se dizer que premunicação e vacinação, em última análise, significam a mesma coisa, isto é, tornar bovinos imunes à TPB através de métodos artificiais. Para fins de

tornar este texto mais didático, será utilizado o termo premunicação quando se referir ao método tradicional de imunização, em que se utiliza sangue de doadores de campo; e vacinação quando se referir ao método que utiliza antígenos conhecidos e titulados, obtidos de doadores, clínica e laboratorialmente sadios, inoculados em condições de isolamento.

- ◆ Premunicação

Este método de vacinação teve início com os trabalhos publicados por Pound (1897) na Austrália e Connaway & Francis (1899), nos EUA, citados por Callow (1977). Os primeiros trabalhos de premunicação iniciaram-se, no Brasil, no início deste século, conforme revisão apresentada por Freire (1979). Desde sua introdução no País sofreu várias modificações. Resumidamente, o método consiste em colher sangue, desfibrinado ou com anticoagulante, de bovinos adultos, portadores crônicos, geralmente mantidos no campo, e inocular, por via subcutânea, quantidades que variam de 3 a 5 ml, nos animais a serem imunizados. Estes animais devem ser examinados diariamente, durante os períodos de reação às *Babesia* spp. e ao *Anaplasma marginale*, sendo medicados sempre que apresentarem a doença em sua forma aguda. Após o término dos períodos de reação os animais são reinoculados. Os animais que reagirem clinicamente e tiverem que ser medicados durante esta segunda infecção, deverão ser inoculados novamente, para a confirmação do desenvolvimento da imunidade.

- ◆ Vacinação com cepas atenuadas

Desenvolvimento das vacinas

Esta tecnologia foi, inicialmente, desenvolvida na Austrália (Callow, 1977). Posteriormente, foi introduzida em outros países, inclusive Uruguai (Nari et al., 1979), Argentina (Guglielmone et al., 1988) e Brasil (Kessler et al., 1987a, 1987b; Schenk et al., 1993).

As vacinas contra a babesiose constituem-se de cepas de *B. bovis* e *B. bigemina* atenuadas, a partir de isolados puros, por passagens sucessivas em bezerros, clínica e laboratorialmente saudáveis, mantidos em área de isolamento. Contra a anaplasmosose é utilizado um isolado de *A. centrale*.

O processo de elaboração da vacina contra babesiose foi iniciado em 1982 na Embrapa Gado de Corte e constituiu-se de três etapas: a) isolamento das cepas; b) atenuação; e c) testes críticos em bovinos suscetíveis. O objetivo desta terceira etapa foi avaliar o grau de atenuação, a infectividade e a proteção a campo das cepas isoladas e atenuadas. Estes experimentos foram feitos com bovinos suscetíveis, utilizando-se bovinos de raça Hereford no Rio Grande do Sul (Kessler et al., 1987b), bovinos da raça Holandesa (em publicação), e bovinos Brangus (Schenk et al., 1993); estes dois últimos testes feitos em Mato Grosso do Sul. Durante o período vacinal e de desafio, os grupos experimentais foram avaliados quanto à temperatura retal, hematócrito, percentagem de parasitemia e anticorpos específicos, pelo teste de imunofluorescência indireta (IFI), segundo Madruga et al. (1987).

Com base nos resultados experimentais, tanto no laboratório como no campo, pode-se concluir que as cepas de *B. bovis* e *B.*

bigemina desenvolvidas pela Embrapa Gado de Corte, apresentam-se pouco virulentas e capazes de estimular uma imunidade protetora, superior a 97%, após uma única vacinação, em bovinos suscetíveis. Estas vacinas foram registradas pela Embrapa como Embravac *B. bovis* e Embravac *B. bigemina*.

Esta metodologia tem as seguintes vantagens:

1. permitem o teste prévio de cada partida de vacina;
2. mantêm as cepas vacinais inalteradas, por tempo indeterminado;
3. podem ser estocadas para serem utilizadas à medida de sua necessidade;
4. podem ser transportadas para qualquer lugar, mesmo os desprovidos de energia elétrica ou fonte de gelo;
5. podem ser descongeladas e diluídas, previamente, para serem utilizadas no mangueiro, em vacinações coletivas, por cerca de 12 horas.

Uso das vacinas

As vacinas contra TPB, na prática, são utilizadas na forma refrigerada ou congelada. A vacina refrigerada apresenta a vantagem de sair do laboratório pronta para o uso. Entretanto, tem como desvantagem o curto tempo de estocagem. Deve ser aplicada num prazo máximo de 5 dias após a produção. Este prazo não permite o teste prévio do lote produzido, antes de sua aplicação nos animais. A vacina congelada, mantida em nitrogênio líquido, mantém suas características originais por tempo indeterminado.

As vacinas, tanto refrigeradas como congeladas, têm como desvantagens: conterem organismos vivos que poderão, por

passagem pelo carrapato, reverter a virulência; e serem produzidas em bovinos. Entretanto, em regiões endêmicas, o fato de a vacina conter organismos vivos não chega a se constituir num problema. A produção em bovinos sempre traz consigo o risco de transmissão de outros patógenos. Por isto, os doadores devem ser previamente examinados, clínica e laboratorialmente, para todas as doenças passíveis de serem transmitidas pelo sangue, e serem mantidos em ambiente isolado de carrapatos e insetos hematófagos. A necessidade de serem conservadas em tanques de nitrogênio líquido, em parte, é compensada pela estabilidade garantida ao longo do tempo e da possibilidade do teste prévio da partida, antes de sua liberação para o campo, diminuindo a possibilidade de transmissão de agentes virulentos e outros patógenos.

A vacina Embravac deve ser aplicada por via subcutânea, na dose de 2 ml, preferencialmente em bovinos de 4 a 18 meses de idade, podendo ser aplicada em animais adultos, sempre a critério do médico-veterinário.

Alguns fatores devem ser considerados, de acordo com cada indivíduo vacinado:

- 1 - Grau de sensibilidade individual. É esperado, dentro de uma população, que alguns indivíduos manifestem, clinicamente, os efeitos da infecção. Entretanto, nem todas as manifestações clínicas, durante o período vacinal, devem ser atribuídas à vacina. Um criterioso exame clínico e laboratorial pode esclarecer a etiologia do problema.
- 2 - Idade dos animais. Os jovens são mais resistentes que os adultos (Mahoney, 1977). Portanto, superam as fases vacinal e de

desafio sem necessitar de medicação específica. Animais adultos, principalmente touros e vacas prenhes, podem manifestar sinais clínicos após a vacinação. Entretanto, Arteché et al. (1996), no Rio Grande do Sul, não observaram nenhum sinal clínico de doença e nenhum aborto entre 390 novilhas prenhes, de dois a três anos de idade, vacinadas com a Embravac-Hemopar.

QUADRO COMPARATIVO ENTRE PREMUNICÃO E VACINAÇÃO

	PREMUNICÃO	VACINAÇÃO ¹
DOADOR	em geral, bovinos de campo	bezerros controlados*
INÓCULO	desconhecido	conhecido e titulado
VOLUME DE SANGUE²	3 a 10 ml	0,2 a 0,6 ml
ACOMPANHAMENTO	intensivo (diário)	observação
PATOGENICIDADE	variável, organismos virulentos	baixa, organismos atenuados
ESTABILIDADE	baixa	estável
PROTEÇÃO	boa com 2 a 3 inoculações	boa acima de 95% com uma inoculação
RISCO DE CONTAMINAÇÃO	alto	baixo

* bezerros examinados clínica e laboratorialmente, mantidos em isolamento.

¹ vacina congelada

² volume de sangue por dose de vacina

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTECHE, C.C.P.; PEDROSO, H.R.; PEREZ, A.M. Performance de imunógenos atenuados, a campo, contra Babesias e Anaplasma - vacina congelada. In: **CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15. 1996**, Campo Grande. **Resumos**. [S.l.] : Associação Panamericana de Ciências Veterinárias, [1996?]. p.333.
- BRUMPT, E. Transmission d'*Anaplasma marginale* par *Rhipicephalus bursa* et par *Margaropus*. **Annals of Parasitology**, v.9, p.4-10, 1931.
- CALLOW, L.L. Vaccination against bovine babesiosis. In: MILLER, L.H.; PINO, A.A.; MCELVEY, J.J., ed. **Immunity to blood parasites of animals and man**. New York: Plenum Press, 1977. p.121-149.
- CALLOW, L.L.; HOYTE, H.M.D. The separation of *Babesia bigemina* from *Babesia argenina* and *Theileria mutans*. **Australian Veterinary Journal**, v.37, p.381-390, 1961.
- FREIRE, N.M.S. Tristeza parasitária bovina no Brasil, retrospectiva. In: **SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE PARASITÓSES DOS BOVINOS, 1., 1979**, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1979. p.271-278.

FRIEDHOFF, K.T. Transmission of *Babesia*. In: RISTIC, M., ed. **Babesiosis of domestic animals and man**. Boca Raton: CRC, Florida, 1988. p.23-52.

GUGLIELMONE, A.A.; ABDALA, A.A.; PIPANO, E.; MANGOLD, A.J.; ZURBRIGGEN, M.A.; ANZIANI, O.S.; AGUIRRE, D.H.; GAIDO, A.B.; RIOS, L.G. Evaluación de la infectividad de una vacuna contra la anaplasmosis bovina elaborada en base a *Anaplasma centrale* congelada en nitrógeno líquido. **Revista de Medicina Veterinaria**, Buenos Aires, v.69, p.298-303, 1988.

JACOBI, A. Veterinary interests in public health: how they came about. In: SCHWABE, C.W., ed. **Veterinary medicine and human health**. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1969. p.34-62.

KESSLER, R.H.; MADRUGA, C.R.; JESUS, E.F.de; SEMPREBOM, D.V. Isolamento de cepas puras de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em área enzoótica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.7, p.747-52, jul. 1987a.

KESSLER, R.H.; SACCO, A.M.S.; JESUS, E.F.de; MADRUGA, C.R. Desenvolvimento de cepas vivas atenuadas de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*: Teste preliminar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.11/12, p.1225-1230, nov./dez.1987b.

KESSLER, R.H.; MADRUGA, C.R.; SCHENK, M.A.M.; RIBEIRO, O.C. Babesiose cerebral por *Babesia bovis* (Babes, 1888; Starcovici, 1893) em bezerros no Estado do Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.18, n.8, p.931-935, ago. 1983.

KOCAN, K.M.; HAIR, J.A.; EWING, S.A. Ultrastructure of *Anaplasma marginale* Theiler in *Dermacentor andersoni* Stiles and *Dermacentor variabilis* (Say). **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.41, n.12, p.1966-1976, 1980a.

KOCAN, K.M.; HSU, K.C.; HAIR, J.A.; EWING, S.A. Demonstration of *Anaplasma marginale* Theiler in *Dermacentor variabilis* (Say) by ferritin-conjugated antibody technique. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.41, n.12, p.1977-1981, 1980b.

LARANJA, J.R.; ARREGUI, L.A.; ARTECHE, C.C.P. Transmissão dos agentes da "Tristeza Parasitária" dos bovinos após passagem de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888) em hospedeiros não habituais. **Boletim do Instituto de Pesquisa "Desidério Finamor"**, Porto Alegre, v.3, p.113-123, 1975.

MADRUGA, C.R.; KESSLER, R.H.; JESUS, E.F.de; SETE, A.J.do. **Imunofluorescência indireta para diagnóstico sorológico de *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*. Produção de antígeno com cepas isoladas no estado do Mato Grosso do Sul e avaliação preliminar do teste.** Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1987. 6p. (EMBRAPA-CNPGC. Pesquisa em Andamento, 32).

MADRUGA, C.R.; AYCARDI, E.; KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M.; FIGUEIREDO, G.R.; CURVO, J.B.E. Níveis de anticorpos anti-*Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos de Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.9, p.1163-1168, set.1984.

MADRUGA, C.R.; KESSLER, R.H.; GOMES, A.; SCHENK, M.A.M.; ANDRADE, D.F.de. Níveis de anticorpos e parasitemia de *Anaplasma marginale* em área enzoótica, nos bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos de Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.20, n.1, p.135-142, jan.1985.

MAHONEY, D.F. *Babesia* of domestic animals. In: KREIER, J. P. **Parasitic protozoa**. New York: Academic Press, 1977. v.4, p.1-52.

MAHONEY D.F.; MIRRE, G.B. A note on the transformation of *Babesia bovis* (sin. *B. argentina*) by the one host tick *Boophilus microplus*. **Research in Veterinary Science**, v.26, p.253-254, 1979.

- NARI, A.; SOLARI, M.A.; CARDOZO, H. Hemovacuna para el control de *Babesia* spp. y *Anaplasma marginale* en el Uruguay. **Veterinaria**, Montevideo, v.15, n.711, p.137-148, 1979.
- PALMER, G.H. *Anaplasma* vaccines. In: WRIGHT, I.G., ed. **Veterinary protozoon and hemoparasite vaccine**. Boca Raton : CRC, 1989. p.1-28.
- RIBEIRO, M.F.B. **Morfologia, evolução e reprodução do *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910) em células epiteliais intestinais de teleóginas do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1877). Estudo ao microscópio óptico e eletrônico**. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas, 1991. 134p. Tese de Doutorado.
- ROSENBUSCH, F.; GONZALES, R. Die Tristeza-ubertragung durch zeckenund desse immunitatsphrobleme. **Archiv fuer Prolistenkund**, v.58, p.300-320, 1927.
- SCHENK, M.A.M.; KESSLER, R.H.; MIGUITA, M.; HONER, M.R. Desenvolvimento de cepas atenuadas de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma centrale*: III. Teste crítico com bovinos Brangus. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.2, n.2, p.75-79, 1993.
- SERGENT, E.; PARROT, L.; DONATIEN, A. Une question de terminologie: immunizer et premunir. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, Paris, v.17, p.37-38, 1924.

THEILER, A. Further investigations into anaplasmosis of South African cattle. In: FIRST Report of the Director of Veterinary Report, 1., 1911. [S.l.]: South African Department of Agriculture, 1911. p.7-46.

IMUNIDADE CONTRA *Babesia* E *Anaplasma*

Flávio Ribeiro Araújo¹

Claúdio Roberto Madruga²

INTRODUÇÃO

A imunidade contra *Babesia* e *Anaplasma* depende da resistência inata do hospedeiro, em adição às respostas específicas contra os antígenos destes hemoparasitos. As citocinas produzidas pelos macrófagos ativados são efetivas no estímulo à imunidade não específica. Os mecanismos imunes específicos compreendem tanto componentes celulares quanto humorais. Os anticorpos protetores, induzidos primariamente como resultado da atividade dos linfócitos T auxiliares, neutralizam a invasão dos eritrócitos pelos merozoítos e potencializam a fagocitose de parasitos na sua fase extracelular e dos eritrócitos infectados. Atualmente existem evidências que a recuperação das infecções por *Babesia* é um processo dependente de linfócitos T (Brown et al., 1992).

¹Méd.-Vet., M.Sc., Departamento de Medicina Veterinária, UNIDERP, Rua Alexandre Herculano, 1400, Campo Grande, MS.

²Méd.-Vet., Ph.D., CRMV-MS nº 0587, Embrapa Gado de Corte, Caixa Postal 154, CEP 79002-970, Campo Grande, MS.

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA NÃO-ESPECÍFICA CONTRA *Babesia*

A capacidade do hospedeiro de superar uma infecção por *Babesia* é determinada não apenas pelas respostas imunes específicas, mas também por características inatas do mesmo. O sistema fagocítico mononuclear e seus mediadores são importantes reguladores da resistência à *Babesia* e podem ser ativados por antígenos de bactérias como *Mycobacterium phlei*. Estes antígenos atuam como imunomoduladores, alterando o curso da infecção aguda por *Babesia bigemina*, promovendo parasitemias mais baixas e decréscimos menos acentuados do hematócrito (Tewari et al., 1996). Existem também evidências de que as células do sistema fagocítico ativadas produzem intermediários reativos do oxigênio (IRO) e do nitrogênio (IRN), que têm ação microbicida e são responsáveis pela degeneração da babesia no eritrócito, criando as chamadas formas de crise (Johnson et al., 1996).

Mecanismos fisiológicos ou bioquímicos de resistência inata também desempenham um papel importante na imunidade contra *Babesia*. Um fator dialisável (peso molecular < 14 kDa), que promove a inibição da multiplicação de *Babesia bovis* e sua eventual morte no interior dos eritrócitos, foi identificado no soro de bezerros provenientes de área livre de carrapatos e com sorologia negativa para este hemoparasito (Levy et al., 1982).

As diversas raças de bovinos também variam em sua susceptibilidade à babesiose. As raças de *Bos indicus* são mais resistentes do que as de *Bos taurus* (Francis, 1966).

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ESPECÍFICA CONTRA *Babesia*

Respostas imunes humorais

O papel das respostas imunes contra *Babesia* mediadas por anticorpos já está bem esclarecido. A transferência passiva de IgG de bovinos hiperimunizados com *B. bovis* protege animais não imunes e esplenectomizados contra o desafio com este hemoparasito. Possivelmente, o mecanismo envolvido nesta proteção compreende a fagocitose por macrófagos, após a opsonização dos eritrócitos infectados ou merozoítos livres por esta classe de anticorpo, evidenciando a cooperação entre componentes da imunidade específica e inata (Mahoney et al., 1979).

Os níveis de anticorpos aumentam durante a fase aguda da infecção e depois declinam durante a fase crônica. Estudos sobre a cinética da produção de anticorpos contra *B. bigemina* mostraram que a IgM é detectada 7 dias após a inoculação por este hemoparasito, alcançando um pique no 12º dia e persistindo em um platô até o 22º dia, declinando até baixos níveis no 28º dia pós-inoculação. A IgG também é detectada no 7º dia pós-infecção, alcançando títulos mais altos no 12º dia e permanecendo assim por 7 semanas (O'Donoghue et al., 1985).

A imunidade passiva, fornecida pelos anticorpos colostrais, é um fator determinante para o estabelecimento do equilíbrio parasito/hospedeiro. Em regiões onde as condições climáticas favorecem a existência de populações de carrapatos na maior parte

do ano, denominadas como áreas de estabilidade enzoótica, os efeitos da babesiose são minimizados pela exposição dos animais aos hemoparasitos desde os primeiros meses de vida, quando os títulos de anticorpos colostrais estão elevados. Neste período, pelo menos 75% da população de bovinos se infectam com *B. bovis* e *B. bigemina* e, após a recuperação da infecção primária, os animais desenvolvem imunidade protetora contra estes hemoparasitos. Por isto, nesta situação, é desnecessária a vacinação contra a babesiose (Mahoney, 1975).

Em estudos realizados no Estado de Mato Grosso do Sul, avaliou-se os níveis de anticorpos colostrais contra *B. bovis* e *B. bigemina*, sendo demonstrado que os títulos mínimos ocorreram, em média, com 29,6 dias e, a partir desta faixa etária, detectou-se as primeiras parasitemias e a elevação dos títulos de anticorpos, indicando imunidade ativa. A totalidade de bezerros soro-reagentes ocorreu, em média, aos 74,6 dias para *B. bigemina* e aos 87,2 dias para *B. bovis*, caracterizando uma situação de estabilidade enzoótica para babesiose (Madruga et al., 1987).

Após a infecção aguda, os animais inoculados com *Babesia* desenvolvem baixas parasitemias, permanecendo como portadores assintomáticos por cerca de quatro anos para *B. bovis* e por até dois anos para *B. bigemina*, estimulando, desta forma, a imunidade do hospedeiro (Mahoney et al., 1973).

Respostas imunes celulares

A maioria das informações sobre a importância dos diferentes tipos de células na imunidade adquirida contra *Babesia* deriva de

estudos feitos com transferência adotiva em roedores, devido à dificuldade na condução deste tipo de experimento em bovinos. A depleção de células T de camundongos imunes contra *Babesia microti* afeta a imunidade expressa pelos animais receptores, sugerindo que as citocinas produzidas por este linfócito, como o interferon- γ , são importantes na ativação de outras células, como os macrófagos (Gray & Phillips, 1983).

Estudos recentes demonstraram que proteínas localizadas nas roptrias, organelas envolvidas na invasão dos eritrócitos pelos merozoítos, estimulam uma imunidade protetora contra *Babesia* em bovinos. Esta imunidade envolve a participação de linfócitos T, através da produção de citocinas que ativam macrófagos, pela eliminação de moléculas parasitocidas (diretamente pelas células T ou pelos macrófagos ativados) ou pela cooperação com linfócitos B para a produção de anticorpos bloqueadores da invasão deste hemoparasito (Brown et al., 1992).

A imunização de bovinos com a proteína associada à roptria-1 (RAP-1) de *B. bigemina* estimula predominantemente a proliferação de células T CD4+, tanto no sangue periférico quanto em linfonodos. Estas células produzem altos níveis de interferon- γ (IFN- γ), após a estimulação com os antígenos deste hemoparasito, e baixos níveis de interleucina-4 (IL-4). A predominância aparente de respostas tipo 1 (T_H1), os títulos de IgG₁ e IgG₂ específicos para RAP-1 não diferem marcadamente. Este fato sugere que os níveis de IFN- γ (para estímulo à produção de IgG₂) e IL-4 (para estímulo à produção de IgG₁) são

suficientes para o processo de cooperação celular com linfócitos B (Brown et al., 1996).

A atividade das células "Natural Killer" (NK) está aumentada durante a babesiose murina. Esta atividade atinge seu ápice durante o pique de parasitemia e na fase de recuperação das infecções por *B. microti*. No entanto, o papel destas células na imunidade contra *Babesia* ainda precisa ser mais elucidado. Estudos realizados com células efetoras mononucleares, isoladas do sangue periférico de bovinos infectados com *B. bovis*, mostraram que estas destruíram eritrócitos de galinha sensibilizados com anticorpos, sugerindo que mecanismos de citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) podem estar envolvidos na resolução de infecções de bovinos por este hemoparasito (Goff et al., 1984).

RESPOSTA IMUNE À INFECÇÃO POR *Anaplasma marginale*

As infecções por *Anaplasma marginale* induzem o animal hospedeiro a produzir uma resposta imune que estabelece uma resistência a esta rickettsia. Na resposta imune humoral, a síntese inicial é de imunoglobulina da classe M (IgM), que é coincidente com o início da parasitemia. A seguir, durante a fase patente da infecção, surge a imunoglobulina da classe G (IgG). Até trinta dias após a crise hemolítica, as proporções são em média 25% de IgM e 75% de IgG. No período de infecção crônica, a proporção da IgG aumenta (Murphy et al., 1966). Estes anticorpos têm sido associados à resistência adquirida à infecção por *Anaplasma*. Recentemente, foi demonstrado

que os anticorpos contra os corpúsculos iniciais desta rickettsia neutralizam a infectividade destes (Palmer & McGuire, 1984). Uma vacina produzida com estes corpúsculos iniciais produziu uma eficaz imunidade em animais susceptíveis que foram desafiados com organismos virulentos de *A. marginale* (Montenegro-James et al., 1991). A importância dos anticorpos na proteção contra *A. marginale* é ratificada pelo fato de que os bezerros com baixo nível ou inexistência de anticorpos colostrais desenvolvem anaplasmose em regiões de estabilidade enzoótica (Madruga et al., 1985). Entretanto, como ocorre na maioria das respostas imunes às infecções, a interação entre a imunidade humoral e celular é necessária para que estas sejam eficazes. Bovinos susceptíveis inoculados com *A. marginale* virulento desenvolveram imunidade mediada por células (IMC), pois os indivíduos que tiveram o teste de inibição de migração dos linfócitos positivo logo após a infecção evidenciaram sinais clínicos da doença, porém sobreviveram, enquanto naqueles que tiveram um resultado positivo mais tarde, quando a parasitemia já era detectada, a doença se manifestou de forma grave, com morte dos animais. Em todos os animais que se recuperaram foi verificada uma forte resposta IMC (Ristic, 1979). Em condições experimentais *in vitro*, foi identificado um efeito citotóxico dos linfócitos de bovinos inoculados com *A. marginale* (Ristic, 1979). Resultados mais recentes evidenciaram uma relação circunstancial da IMC na resposta imune às infecções por *A. marginale*, tal como ocorre em infecções por outras rickettsias, na qual os linfócitos T auxiliares ativam os macrófagos através da produção de interferon- γ (Li et al., 1987). Isto ocorre,

possivelmente, na infecção por *A. marginale*, porque no cultivo *in vitro* de linfócitos sensibilizados com antígeno desta rickettsia, foi detectada a presença de interferon- γ no sobrenadante da cultura (Gale et al., 1996). A resistência não específica também é obtida em infecções com organismos imunologicamente não correlatos, como *Theileria* (Stewart et al., 1990) ou preparações de *Mycobacterium* (Sharma, 1988).

A imunidade natural também é representada na infecção por *Anaplasma* pela explosão oxidativa dos leucócitos. A ação ricketticida ocorre devido à ativação de enzimas e produção de radicais superóxidos, que matam o *Anaplasma* (More et al., 1989). Além deste mecanismo imunológico de resistência, três outros possivelmente atuam no estabelecimento da resistência à infecção por *Anaplasma*: 1- bloqueio dos sítios de ligação dos corpúsculos iniciais de *A. marginale* ao eritrócito; 2- lise direta dos corpúsculos iniciais por anticorpo e complemento; 3- fagocitose e morte intracelular dos corpúsculos iniciais ou dos eritrócitos parasitados opsonizados por anticorpos ou complemento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROWN, W.C.; LOGAN, K.S. *Babesia bovis*: bovine helper T cell lines reactive with soluble and membrane antigens of merozoites. **Experimental Parasitology**, New York, v.74, p.188-199, 1992.

BROWN, W.C.; McELWAIN, T.F.; RUEF, B.J.; SUAREZ, C.E.; SHKAP, V.; CHITKO-McKOWN, C.G.; TUO, W.; RICE-FICHT, A.C.; PALMER, G.H. *Babesia bovis* rhoptry-associated protein 1 is immunodominant for T helper cells of immune cattle and contains T-cell epitopes conserved among geographically distant *B. bovis* strains. **Infection and Immunity**, Washington, v.64, p.3341-3350, 1996.

FRANCIS, J. Resistance of zebu and other cattle to tick infestation and babesiosis with special reference to Australia: an historical review. **British Veterinary Journal**, London, v.122, n.7, p.301-307, Jul. 1966.

GALE K.R.; GARTSIDE, M.G.; DIMMOCK, C.M.; ZAKRZEWSKI, H.; LEATCH, G. Peripheral blood lymphocyte proliferative responses in cattle infected with or vaccinated against *Anaplasma marginale*. **Parasitology Research**, Berlin, v.82, p.551-562, 1996.

GOFF, W.F.; WAGNER, G.G.; CRAIG, T.M.; LONG, R.F. The role of specific immunoglobulins in antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity assays during *Babesia bovis* infection. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.14, p.117-128, 1984.

GRAY, G.D.; PHILLIPS, R.S. Suppression of primary and secondary antibody responses and inhibition of antigen priming during *Babesia microti* infections in mice. **Parasite Immunology**, Oxford, v.5, p.123, 1983.

- JOHNSON, W.C.; CLUFF, C.W.; GOFF, W.L.; WYATT, C.R. Reactive oxygen and nitrogen intermediates and products from polyamine degradation are babesicidal in vitro. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v.791, p.136-147, 1996.
- LEVY, M.G.; CLABAUGH, G.; RISTIC, M. Age resistance in bovine babesiosis. Role of blood factors in resistance to *Babesia bovis*. **Infection and Immunity**, Washington, v.37, p.1127, 1982.
- LI, H.; JERRELS, T.R.; SPITALNY, G.L.; WALKER, D.H. Gamma interferon as a crucial defense against *Rickettsia conorii* in vivo. **Infection and Immunity**, Washington, v.55, p.1252-1255, 1987.
- MADRUGA C.R.; KESSLER, R.H.; GOMES, A.; SCHENK, M.A.M.; ANDRADE, D.F. Níveis de anticorpos e parasitemia de *Anaplasma marginale* em área enzoótica nos bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos de Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.20, p.135-142, 1985.
- MADRUGA, C.R.; HONER, M.R.; SCHENK, M.A.M.; CURVO, J.B.E. **Avaliação preliminar dos parâmetros epidemiológicos da Tristeza Parasitária Bovina em Mato Grosso do Sul**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1987. 7p. (EMBRAPA-CNPGC. Pesquisa em Andamento, 38).
- MAHONEY, D.F. The diagnosis of babesiosis in Australia. In. **WORKSHOP ON HEMOPARASITES (Anaplasmosis and Babesiosis)**. Cali: CIAT, 1975, p.49-62.

- MAHONEY, D.F.; KERR, J.D.; GOODGER, B.V.; WRIGHT, I.G. The immune response of cattle to *Babesia bovis* (syn *B. argentina*): studies on the nature and specificity of protection. **International Journal of Parasitology**, Oxford, v.9, p.297-306, 1979.
- MAHONEY, D.F.; WRIGHT, I.G.; MIRRE, G.B. Bovine babesiosis: the persistence of immunity to *Babesia argentina* and *Babesia bigemina* in calves (*Bos taurus*) after naturally acquired infection. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v.67, n.2, p.197-203, 1973.
- MONTENEGRO-JAMES, S.; JAMES, M.A.; BENITEZ, M.T.; LEON, E.; BAEK, B.K.; GUILLEN, A.T. Efficacy of purified *Anaplasma marginale* initial bodies as a vaccine against anaplasmosis. **Parasitology Research**, Berlin, v.77, p.93-101, 1991.
- MORE, T.; REDDY, G.R.; SHARMA, S.P.; SHINGH, L.N. Enzymes of oxidant defence system of leucocytes and erythrocytes in bovine anaplasmosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.31, p.333-337, 1989.
- MURPHY, F.A.; OSEBOLD, J.W.; AALUND, O. Kinetics of the antibody response to *Anaplasma marginale* infection. **Journal of Infections and Diseases**, Chicago, v.116, p.99-106, 1966.

- O'DONOGHUE, P.J.; FRIEDHOFF, K.T.; VISCAÍNO, C.G.; WEYRETER, H. The detection of IgM and IgG antibodies against *Babesia bigemina* in bovine sera using a semi-defined antigens in enzyme immunoassays. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.18, p.1-12, 1985.
- PALMER, G.H.; McGUIRE, T.C. Immune serum against *Anaplasma marginale* initial bodies neutralizes infectivity for cattle. **Journal of Immunology**, Baltimore, v.133, p.1010-1015, 1984.
- RISTIC, M. Bovine anaplasmosis with emphasis on immune responses and protection. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE USE OF ISOTOPES FOR RESEARCH AND CONTROL VECTORS OF ANIMAL DISEASES, HOST PATHOGEN RELATIONSHIPS AND THE ENVIRONMENTAL IMPACT OF CONTROL PROCEDURES, 1979, Vienna. [Preprint] [S.I.]: FAO, [1979]. 22p.
- SHARMA, S.P. Non-specific immunization against *Anaplasma* infection by using *Mycobacterium phlei*. **Indian Journal of Veterinary Medicine**, v.8, p.125-127, 1988.
- STEWART, N.P.; VOS, A.J.de; STANDFAST, N.F. Concurrent infection with *Theileria buffeli* caused depression of parasitemia in *Babesia bovis* and *Anaplasma centrale* infections in splenectomized calves but not in *Babesia bigemina* infections. **Research Veterinary Science**, Oxford, v.49, p.346-348, 1990.

DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DA TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA

Raul Henrique Kessler¹

Maria Aparecida M. Schenk²

INTRODUÇÃO

Não existem sintomas patognomônicos de TPB. O diagnóstico clínico é sempre um diagnóstico de suposição, baseado na anamnese, apresentação e sinais clínicos. O diagnóstico definitivo depende da confirmação laboratorial.

A infecção pelos diferentes agentes da TPB tem características peculiares. A *Babesia bovis* muitas vezes se manifesta de forma aguda ou superaguda. O animal ao ser examinado, apresenta temperatura elevada, mucosas congestionadas e não apresenta hemoglobinúria. Pode ser observada, também, sintomatologia nervosa, manifestada por incoordenação motora e andar cambaleante (devido ao acúmulo de eritrócitos parasitados nos capilares dos órgãos viscerais e cérebro); estes sintomas podem ser confundidos com raiva. Já em casos de babesiose por *Babesia*

¹ Méd.-Vet., Ph.D., CRMV-MS nº 0575, Embrapa Gado de Corte, Caixa Postal 154, 79002-970 Campo Grande, MS.

² Méd.-Vet., M.Sc., CRMV-MS nº 0157, Embrapa Gado de Corte.

bigemina ocorre uma anemia hemolítica manifestada por mucosas anêmicas e hemoglobinúria. Como o período de incubação das babesias é o mesmo, muitas vezes há superposição de sintomas. A anemia pode ser causada pelo carrapato, por parasitoses gastrintestinais, por outros agentes, como a *Ehrlichia bovis* e *Tripanosoma vivax*, por carência de cobre, cobalto ou ferro. A hemoglobinúria pode ser observada, também, em casos de clostridioses (hemoglobinúria bacilar), leptospirose, agentes químicos (cobre, mercúrio, sulfonamidas) e/ou plantas tóxicas, como o fedegoso (mioglobinúria). A anaplasmosose se caracteriza por uma anemia intensa, icterícia leve e sem hemoglobinúria, além de hipertermia, anorexia e depressão. Nas formas crônicas da anaplasmosose podem ocorrer recidivas.

Ao proceder-se o exame clínico, nos casos de suspeita de TPB, deve-se colher sangue com anticoagulante para determinação do volume globular (grau de anemia) e preparar lâminas delgadas de sangue periférico (preferencialmente de capilares da orelha ou cauda) para o exame direto. No caso de bovinos procedentes de outras regiões, é conveniente fazer-se a colheita de amostras de sangue sem anticoagulante, para obtenção de soro e determinação da presença de anticorpos específicos. Em caso de morte, suspeita de babesiose, deverá ser feita a necropsia (ver capítulo sobre diagnóstico anatomopatológico), preparando-se "claps" ou esfregaços de cérebro para diagnóstico laboratorial.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Os exames laboratoriais são de fundamental importância para a confirmação do diagnóstico clínico e identificação específica do agente. Em virtude da diferença de patogenicidade e de sensibilidade dos diferentes agentes aos medicamentos, o diagnóstico laboratorial fornecerá subsídios indispensáveis para a orientação do tratamento dos casos clínicos e orientação de medidas profiláticas.

Exame parasitológico ou direto

É a principal ferramenta para o diagnóstico laboratorial específico de casos clínicos. O sangue deve ser colhido de capilares da margem da orelha ou da ponta da cauda. Para fazer a distensão, utilizar lâminas de vidro, limpas, desengorduradas e secas. Colocar uma gotícula de sangue em um dos extremos de uma lâmina e, com outra, colocada em ângulo de 45° à frente da gotícula, deslizar suavemente para confecção da distensão. Esta deve ser bem delgada, ocupando a terça parte central da lâmina. Secar imediatamente, para que as hemácias não se deformem, e identificar com lápis. No laboratório, fixar em álcool metílico (30 segundos) e colocar as lâminas em uma cuba com o corante³, diluído a 1:10 em solução tampão fosfato, pH 6,6⁴, por 45 minutos (**coloração lenta**). Lavar em água corrente e secar imediatamente. Examinar ao microscópio, com

³ Preparação do corante: - Giemsa em pó 2,27g, May-Grünwald em pó 1,90 g, Glicerina 20 ml e Metanol p.a. 1000 ml. Dissolver separadamente, em um gral, pequenas porções do corante em glicerina. Lavar com metanol e recolher em um frasco âmbar. Proceder assim até o término do corante. Deixar em repouso 30 dias antes do uso.

⁴ Solução tampão fosfato pH 6,6: fosfato de sódio dibásico (Na₂HPO₄) 3,8 g, fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) 5,47g, água destilada 1000 ml.

objetiva de imersão. Esta mesma coloração, em casos de urgência, pode ser feita em 12 minutos (**coloração rápida**), colocando-se sobre a lâmina, previamente fixada, 2 ml do corante diluído, em partes iguais, com o tampão fosfato pH 6,6.

O esfregaço de cérebro deve ser corado da mesma forma que as lâminas de sangue, pelo Giemsa ou pelo May-Grünwald/Giemsa. Entretanto, a fixação com álcool metílico deve ser de 1 minuto.

A coloração lenta proporciona lâminas de melhor qualidade, facilitando o diagnóstico específico. Além disso, possibilita a visualização de reticulócitos e eritrócitos imaturos, o que é muito importante para o prognóstico. Casos de anemia, sem presença de reticulócitos, têm prognóstico reservado a desfavorável. A presença de reticulócitos indica atividade hematopoética compensatória e o prognóstico é favorável. Em bovinos clinicamente normais, os reticulócitos não aparecem no sangue periférico, completam seu amadurecimento total na medula óssea ou são fagocitados no baço. O aparecimento destas células no sangue periférico ocorre em resposta à perda de sangue ou na recuperação de uma anemia (Jain, 1986).

Ao microscópio, podem ser vistas as babesias, protozoários que possuem uma membrana externa e o citoplasma onde se encontram diversas organelas que podem ser visualizadas com o corante May-Grünwald/Giemsa. A *B. bovis* se apresenta em forma de um pequeno anel ou de pêra, medindo de 1,0 a 2,5 micrômetros (Fig. 1). Nos esfregaços de cérebro, nos casos positivos, os capilares apresentam-se repletos de eritrócitos parasitados por *B. bovis* (Fig. 2). Em casos negativos, os capilares aparecem vazios, visualizando-se

apenas os núcleos das células retículo endoteliais. A *B. bigemina* é mais pleomorfa, sendo encontrados trofozoítos em forma de anel, em forma amebóide (no processo de divisão) e piriforme (no final da divisão) com 2,5 a 4,0 micrômetros de comprimento (Fig. 3).

O *A. marginale*, como as demais rickettsias, apresenta-se como uma pequena esfera de cor violeta escura ou preta, localizada na margem interna dos eritrócitos (Fig. 4). O *A. centrale* localiza-se mais no interior do eritrócito.

A verificação da parasitemia (estimada pela percentagem de eritrócitos parasitados) pode ser feita pela contagem de, pelo menos, 1000 eritrócitos, contando-se, separadamente, parasitadas e não parasitadas, com o auxílio de um retículo ocular. Através da regra de três, calcula-se a percentagem de parasitemia. Nas infecções por *B. bovis* a parasitemia em geral é baixa. Em casos graves, pode-se encontrar apenas 0,1 a 0,2%. Em casos clínicos por *B. bigemina*, em geral, a parasitemia está acima de 1,0%, o mesmo acontecendo nos casos de *A. marginale*.

Hematócrito

Tecnicamente chamado de volume globular (VG), é bastante útil para a avaliação da gravidade do quadro clínico. O VG nada mais é do que o volume ocupado pelas hemácias em uma amostra de sangue, sendo expresso em percentagem. Este valor é, geralmente, determinado pelo método do microhematócrito que compreende o preenchimento de um tubo capilar, até 2/3 de sua capacidade, com a amostra de sangue e centrifugação, por 5 minutos, a 11.000 rpm, em uma centrífuga de microhematócrito. A leitura é feita colocando-se o

tubo sobre um cartão de leitura de microhematócrito que acompanha a centrífuga.

O sangue é colhido da jugular ou caudal, em um frasco com anticoagulante. O anticoagulante mais utilizado é o EDTA (ácido etililenodiaminotetraacético, sal dissódico) na proporção de 0,25g de EDTA para 100 ml de sangue. Na prática, usam-se tubos de coleta de sangue a vácuo, de 5 ml, colocando-se 0,1 ml de solução a 10 % de EDTA em salina. Colhe-se 4 ml de sangue por tubo e homogeneiza-se, com movimentos suaves, invertendo-se o tubo duas ou três vezes, para misturar bem o anticoagulante com o sangue, para evitar a coagulação.

Nos casos de babesiose por *B. bigemina* e na anaplasmosose, o hematócrito pode decrescer em mais de 50% em relação ao valor normal para bovinos que, segundo Ferreira-Neto & Viana (1977), é de 24 a 48%, dependendo da região.

Exame sorológico

Este exame será tratado em detalhe em outro capítulo, entretanto, a técnica para obtenção de sangue para soro será aqui descrita. As amostras de sangue são colhidas da veia jugular ou da caudal. Este sangue é colhido em tubo sem anticoagulante preenchendo-se 2/3 de sua capacidade. Tubos com vácuo e agulhas finas (21:1) devem ser preferidos por causar menos traumatismo. O tubo deve ser identificado com número do animal e data da colheita. Os tubos devem permanecer em temperatura ambiente, inclinados, para aumentar a superfície de contato com o ar, até completar-se a coagulação. Este sangue pode ser centrifugado (3.000 rpm por 10

minutos) imediatamente após a coagulação para a retirada do coágulo. Caso contrário, deverá ser mantido sob refrigeração. O soro pode ser conservado por longos períodos à temperatura de -20°C.

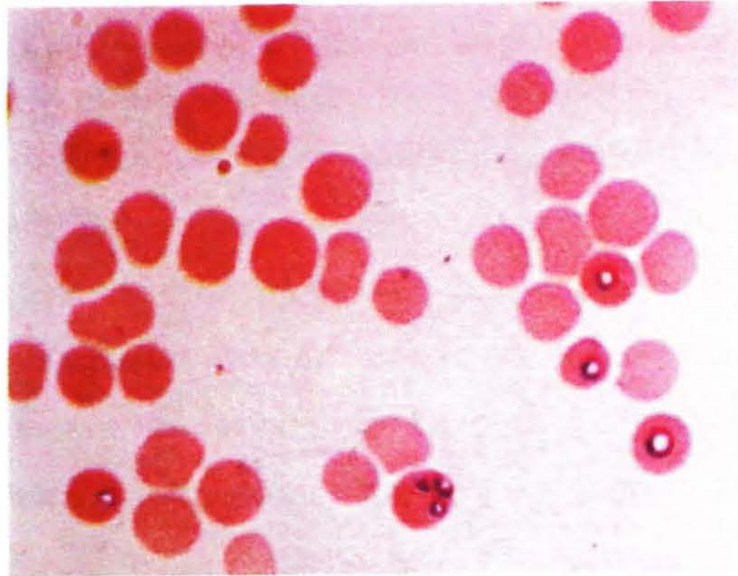


FIG. 1. *Babesia bovis*

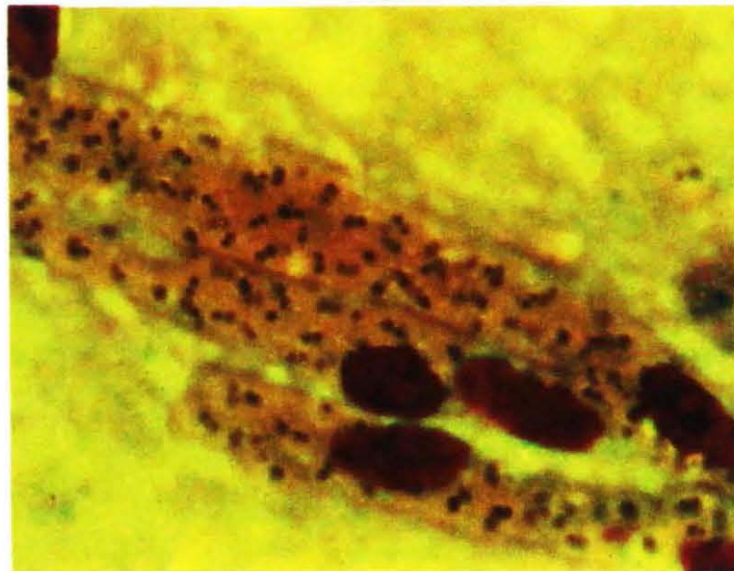


FIG. 2. *Babesia bovis* nos capilares do cérebro.

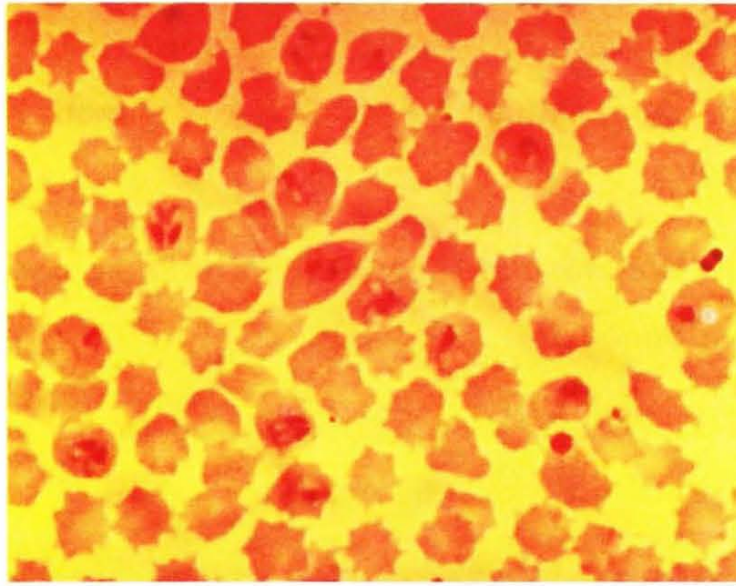


FIG. 3. *Babesia bigemina*

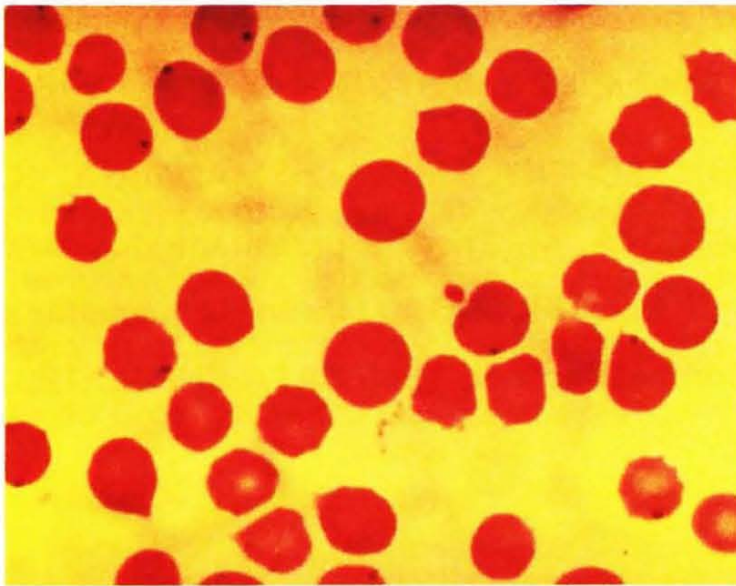


FIG. 4. *Anaplasma marginale*: corpúsculos de inclusão localizados na margem interna dos eritrócitos.

LITERATURA CONSULTADA

- BIRGEL, E.H.; NETTO, L.P.; AMARAL, V.do; PANETTA, J.C. **Meios e métodos de diagnósticos em medicina veterinária**. Rio de Janeiro : Varela, 1977. 218p.
- FARIAS, N.A.R. **Diagnóstico e controle da tristeza parasitária bovina**. Guaíba : Agropecuária, 1995. 80p.
- FERREIRA-NETO, J.M., VIANA, E.S. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo Brasil, 1977. 279p.
- GARCIA-NAVARRO, C.E.; PACHALY, J.R. **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo: Varela, 1994. 169p.
- JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia : Lea & Febiger, 1986. 1221p.
- KESSLER, R.H.; MADRUGA, C.R.; SCHENK, M.A.M. Babesiose cerebral por *Babesia bovis* (Babés 1888 Starcovici) em bezerros, no Estado de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.18, n.8, p.931-935, ago.1983.
- KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M.; MADRUGA, C.R.; SACCO, A.M.S.; MIGUITA, M. Tristeza parasitária dos bovinos (TPB). In: CHARLES, T.P.; FURLONG, J. **Doenças parasitárias dos bovinos de leite**. Coronel Pacheco : EMBRAPA-CNPGL, 1992. p.1-30.

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA

Cláudio Roberto Madruga¹

Flábio Ribeiro Araújo²

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os métodos de diagnóstico sorológico para *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* tiveram um grande avanço, tanto nas técnicas que utilizam os antígenos brutos como os recombinantes. Recentemente, as sondas de DNA surgiram como técnicas de grande potencial no diagnóstico direto dos hemoparasitos. Entretanto, na prática, estas não apresentaram uma sensibilidade maior que os esfregaços de sangue ou provas sorológicas. Por exemplo, a imunofluorescência indireta apresentou uma sensibilidade similar a uma sonda de DNA de *Anaplasma marginale* (Goff et al., 1990). Diversas sondas de DNA para *Babesia* não mostraram uma sensibilidade maior que o exame de esfregaço de sangue (Petchpoo et al., 1992). Inclusive, uma sonda produzida com múltiplas cópias de DNA genômico de *B. bovis* foi menos sensível que o

¹Méd.-Vet., Ph.D., CRMV-MS nº 0587, Embrapa Gado de Corte, Caixa Postal 154, CEP 79002-970 Campo Grande, MS.

²Méd.-Vet., M.Sc., Departamento de Medicina Veterinária, UNIDERP, Rua Alexandre Herculano, 1400, Campo Grande, MS.

esfregaço sangüíneo (Dalglish, 1993). As sondas baseadas nos genes que codificam o DNA ribossômico apresentaram uma sensibilidade um pouco maior, porém não superaram o desempenho do sistema quantitativo do "buffy coat" (QBC). A reação de polimerase em cadeia (PCR) possui sensibilidade superior à das sondas de DNA, devido à ampliação de seqüências específicas do DNA de *Babesia* ou *Anaplasma*. O PCR para *Babesia* spp. pode detectar DNA do parasito a níveis de 10^9 de parasitemia, portanto, cerca de 100 vezes mais sensível que o esfregaço de sangue (Fahrimal et al., 1992; Figueiroa et al., 1992). A desvantagem destas técnicas é a utilização de elementos radioativos, pois as sondas com elementos não radioativos ainda apresentam uma sensibilidade baixa, equivalente a uma parasitemia de 10^6 , o que é semelhante ao esfregaço sangüíneo (Figueiroa et al., 1992). Mesmo com estes avanços, as provas sorológicas são importantes porque os animais que sofrem infecções por *Babesia* ou *Anaplasma*, e que sobrevivem, desenvolvem imunidade com produção de anticorpos, que os protege de uma nova ocorrência da doença. Portanto, a detecção de anticorpos é um indicador de imunidade a estas hemoparasitoses e a percentagem de animais sorologicamente positivos determina a situação epidemiológica da tristeza parasitária bovina (TPB) num rebanho ou região fisiográfica, como uma situação de estabilidade ou instabilidade enzoótica. Na primeira situação, mais de 75,0% dos bovinos têm imunoglobulinas específicas contra os agentes da tristeza parasitária, enquanto que na segunda, a percentagem de soropositivos está abaixo de 75,0% (Mahoney, 1975). Isto significa que, na estabilidade enzoótica, o risco de surto de TPB é inexistente, enquanto que na instabilidade, o risco é elevado, principalmente se houver um

aumento da população de vetores na região ou se estes animais forem transportados para áreas onde a infestação de carrapatos proporcione elevadas taxas de inoculação de *Babesia* e *Anaplasma*. Uma vez que os anticorpos indicam que o animal produziu uma resposta imune protetora, as provas sorológicas têm uma grande importância na avaliação dos métodos preventivos, tais como a aplicação de sistemas de controle de vetor (carrapato), premunicação e/ou vacinação com cepas atenuadas.

DINÂMICA DE PRODUÇÃO DE ANTICORPOS NAS INFECÇÕES POR *Babesia* E *Anaplasma*

O complexo sistema imunológico do bovino protege contra a invasão dos microrganismos, produzindo diferentes tipos de linfócitos, que são programados para reconhecer, especificamente, substâncias denominadas antígenos. Quando o antígeno é apresentado, em conjunção com moléculas de histocompatibilidade maior de classe II, para receptores específicos nos linfócitos T auxiliares (CD4), estes proliferam. Através das linfocinas, originadas dos linfócitos T ativados, estabelece-se um sistema de comunicação que define o tipo de resposta imune. Os linfócitos T auxiliares que produzem IL-2 e IFN- γ (TA1) induzem uma resposta imune celular, enquanto que os linfócitos que secretam IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10 (TA2) auxiliam a resposta imune humoral, que é mediada por anticorpos ou imunoglobulinas. Este grupo de moléculas protéicas heterogêneas ocorrem na fração gamaglobulina do soro. Nos bovinos, existem as seguintes classes e subclasses de

imunoglobulinas determinadas: IgM ou macroimunoglobulina, IgG que está subdividida nas subclasses IgG₁ e IgG₂, IgA e IgE. Em estudo realizado com antígeno de *B. bovis*, verificou-se que a IgM foi a classe predominante nas três primeiras semanas, enquanto a IgG foi de maior concentração seis meses após a infecção. A reação à infecção por *B. bigemina* é similar na seqüência de classes de imunoglobulinas. Entretanto, os períodos são mais curtos, porque os níveis de anticorpos são, normalmente, detectados após a infecção primária por um período médio de seis meses, enquanto que contra *B. bovis* os anticorpos podem ser detectados por até quatro anos (Mahoney et al., 1979).

Na infecção por *A. marginale*, a cinética de formação de anticorpos é semelhante. Inicialmente surge IgM e, no espaço de cinco a sete dias, é detectada a produção de IgG. Após a fase aguda da doença, os anticorpos atingem a concentração máxima. Os anticorpos circulantes são compostos por 25% de IgG e 75% de IgM. Esta proporção persiste por vários meses, e aos 18 meses, detecta-se apenas IgG. O período após a infecção por *Babesia* ou *Anaplasma* em que os anticorpos são detectados é variável, dependendo da reação do hospedeiro à infecção, e da sensibilidade do teste empregado. De maneira geral, nas três infecções, o primeiro pique no nível de anticorpos coincide com a produção de IgM e IgG, sendo que esta última persiste por um período mais longo. Os níveis mais baixos de IgG nos animais cronicamente infectados são, provavelmente, compensados pela maior afinidade dos anticorpos pelos antígenos, em decorrência do fenômeno de maturação da afinidade.

PRINCÍPIOS DAS TÉCNICAS DE MENSURAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA HUMORAL

Fixação de complemento (FC)

O teste de fixação de complemento é uma das primeiras provas sorológicas desenvolvidas para o diagnóstico de anticorpos contra *Babesia* e *Anaplasma*. Esta prova é realizada em duas etapas. Na primeira delas, o antígeno e o soro inativado (sem complemento, devido ao aquecimento a 56°C por 30 minutos) são incubados a 37°C com soro normal de cobaia, que constitui a fonte de complemento. Após um período, no qual ocorre a reação entre antígeno-anticorpo-complemento, a quantidade de complemento livre na solução é medida por adição do sistema indicador (sistema hemolítico), que consiste em anticorpo (anti-eritrócitos de ovinos) com eritrócitos de ovinos. A lise do sistema hemolítico indica que o resultado é negativo, pois o complemento não foi fixado, portanto, não existem anticorpos no soro teste. Na presença de complexo imune, o complemento é absorvido por este e não ocorre a lise, o que indica um resultado positivo. Em um trabalho de titulação, haverá reações sem hemólise e uma gradativa hemólise à medida em que o soro teste é diluído. O título do soro será aquela diluição mais alta em que não ocorrer hemólise. O teste de fixação de complemento primariamente detecta anticorpos da classe IgM, que são produzidos em maior concentração na resposta do sistema imune às infecções primárias. As principais características do teste são: 1- alto grau de especificidade, proporcionando apenas 1 a 2% de reações falso-positivas em bovinos não infectados; 2- apresenta

reações cruzadas entre as babesias, principalmente logo após a recuperação da fase aguda; 3- a sensibilidade é baixa, pois indica a existência de uma infecção subclínica apenas por 4 a 8 meses após a fase aguda. Desta forma, os anticorpos atingem níveis não detectáveis antes que o animal perca a condição de portador. Por essa razão, atualmente, o teste de FC é pouco utilizado.

Imunofluorescência indireta (IFI)

Na IFI, além do antígeno e do soro teste, é necessária a anti-imunoglobulina marcada com o fluorocromo, sendo o isotiocianato de fluoresceína o mais utilizado.

O teste é também realizado em duas fases. Na primeira, o antígeno é incubado com soro. Se for positivo, formará complexos imunes (antígeno-anticorpo). Na segunda, o complexo formado é colocado em incubação com a anti-imunoglobulina marcada com o isotiocianato de fluoresceína. A leitura é feita em microscópio com luz ultravioleta. Este teste é o mais utilizado pelos laboratórios de diagnóstico sorológico de *Babesia* e *Anaplasma*, devido à alta sensibilidade e especificidade, além da simplicidade e baixo custo.

Aglutinação

Os anticorpos, que são bivalentes, podem se ligar a partículas de antígenos, formando complexo insolúveis, que darão origem a grumos de aglutinação. A aglutinação é produzida por uma suspensão de partículas antigênicas com soro imune. A aglutinação ocorre em duas etapas. Inicialmente os anticorpos se combinam rapidamente com as partículas, sendo esta a interação primária. A interação secundária,

ou aglutinação propriamente dita, é um processo mais lento, pois a aderência entre as partículas ocorre por contato. Diversas provas de aglutinação foram desenvolvidas (Tabela 1), mas as que apresentaram melhores resultados foram as congutinações. Estas reações ocorrem devido à presença de complemento e congutina. A primeira delas foi o teste do cartão para *Anaplasma* (Amerault & Roby, 1968), posteriormente para *B. bovis* (Chieves et al., 1989; Madruga et al., 1991) e mais recentemente para *B. bigemina* (Madruga et al., 1995). Estes testes demonstraram uma sensibilidade e especificidade acima de 90% e que não diferiram significativamente da IFI (Madruga et al., 1995). As vantagens destes testes são a simplicidade, baixo custo e rapidez na obtenção dos resultados (5 a 7 minutos).

TABELA 1. Principais testes sorológicos e as imunoglobulinas detectadas.

Testes sorológicos	Classe de imunoglobulinas		
	IgM	IgG	IgA
Fixação de complemento	+++	+	+
Aglutinação	+++	+	-
Imunofluorescência	+++	+++	+++
ELISA	+++	+++	+++
Surgimento após contato com antígeno	2-5 dias	3-7 dias	3-7 dias
Concentração maior	5-14 dias	7-21 dias	7-21 dias

Ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA)

Os testes imunoenzimáticos tiveram um grande desenvolvimento nos últimos anos e várias técnicas alternativas vêm sendo utilizadas. O método mais comum para se detectar anticorpos é o ELISA indireto. Neste, os poços das placas plásticas de poliestireno ou polivinil são cobertas com antígenos solúveis protéicos, que se ligam firmemente ao plástico. Os complexos antígeno-anticorpo serão formados pela adição do soro. As alternativas para detecção destes imunocomplexos são múltiplas, destacando-se a anti-imunoglobulina conjugada a uma enzima (peroxidase ou fosfatase alcalina); substâncias que se ligam à porção F_c do anticorpo, tais como proteína A, proteína G marcada com enzimas, ou ainda anti-imunoglobulina marcada com biotina, que se combina com moléculas de avidina conjugadas a uma enzima. O complexo formado (anticorpo-antígeno-anti-imunoglobulina conjugada com enzima) é detectado com adição de um substrato da enzima. A intensidade da cor formada é proporcional à quantidade do complexo antígeno-anticorpo. Vários ELISAs indiretos com antígenos brutos de *B. bigemina*, *B. bovis* e *A. marginale* foram produzidos no Brasil (Tabela 2). Variações do ELISA têm sido descritas, tais como o Dot-Elisa, que utiliza antígeno sólido aderido à membrana de nitrocelulose. O advento de anticorpos monoclonais proporcionou o desenvolvimento de ELISA baseado em inibição competitiva. Neste tipo de ELISA, os epitopos no antígeno que cobrem os poços são disputados pelos anticorpos existentes nos soros e por um anticorpo monoclonal. Nas fases subseqüentes, a formação de complexos antígeno-anticorpo é direcionada à detecção do anticorpo monoclonal produzido em camundongo. Adiciona-se ao sistema a anti-imunoglobulina de

camundongo marcado com biotina. A enzima utilizada é a fosfatase alcalina conjugada com avidina, que se combinará com a biotina. O substrato adicionado somente desenvolverá cor se o anticorpo monoclonal permanecer no sistema. O soro será considerado positivo se o anticorpo monoclonal for impedido de se ligar ao antígeno. Conseqüentemente, a cor decorrente da ação da enzima no substrato não é desenvolvida, ou o valor da densidade ótica no leitor de ELISA é consideravelmente inferior ao registrado com o soro controle negativo. Um teste de ELISA competitivo foi desenvolvido para a determinação de anticorpos contra *A. marginale* (Palmer et al., 1994).

Uma etapa a mais na purificação de antígenos foi obtida com a utilização de anticorpos monoclonais para separação de proteínas específicas em cromatografia por afinidade. Duas proteínas consideradas imunodominantes e espécie-específicas de 72 kDa e 42 kDa, oriundas da superfície do merozoíto de *B. bigemina* e *B. bovis*, respectivamente, foram obtidas por esta técnica (Goff et al., 1989). O ELISA desenvolvido demonstrou ter 100% de sensibilidade com soro de animais inoculados com cepas de *B. bovis* homólogas. Entretanto, com soro de bovinos infectados com isolado de uma região geográfica diferente, a sensibilidade foi de 86%, sendo inferior à imunofluorescência indireta, que apresentou 100% de sensibilidade com o soro heterólogo. O mais recente avanço para obtenção de antígeno imunodominante e espécie-específico para teste sorológico consistiu na produção de proteína recombinante ou sintética, visando uma obtenção em alta escala de proteína nativa pura. Apesar deste ser um enfoque lógico, problemas de sensibilidade podem surgir devido às variações antigênicas entre os diversos isolados geográficos. O ELISA

com a proteína recombinante de 42 kDa de *B. bovis* apresenta uma alta sensibilidade com os soros imunes dos isolados mexicanos de *B. bovis*, mas detectou anticorpos em apenas 50% dos soros de animais infectados com o isolado brasileiro desta espécie de babesia bovina. Um ELISA com antígeno recombinante com alta sensibilidade e especificidade foi conseguido por pesquisadores australianos (Böse et al., 1990). A grande vantagem do antígeno recombinante é que existe menor variação entre as partidas de antígeno.

TABELA 2. Tipos de provas sorológicas e anticorpos específicos detectados contra *Babesia* spp. e *Anaplasma* spp.

Testes Sorológicos/Autores	<i>Babesia</i>	<i>Anaplasma</i>
Fixação de Complemento (Franklin et al., 1963; Mahoney, 1962)	X	X
Precipitação em gel (Mahoney & Goodger, 1969)	X	X
Imunofluorescência indireta (Goff & Winward, 1983?; Madruga et al., 1987)	X	X
Hemaglutinação indireta (Goodger, 1971)	X	
Aglutinação capilar (Ristic, 1962; Dwivedi & Gautam, 1982)	X	X
Aglutinação em lâmina (Goodger & Mahoney, 1974; Curnow, 1973)	X	
Aglutinação em cartão (Amerault & Roby, 1968; Chieves et al., 1989)	X	X
Aglutinação em placa (Madruga et al., 1991; Madruga et al., 1995)	X	X
Aglutinação rápida em látex (Lopez & Todorovic, 1978; Montenegro et al. 1981)	X	X
ELISA indireto, antígenos brutos (Barry et al., 1982; Duzgun et al., 1988; Madruga et al., 1996?a, 1996?b)	X	X
Dot- Elisa (Montenegro et al., 1989)	X	X
ELISA indireto antígeno recombinante (Böse et al., 1990)	X	
ELISA competitivo		X
Ensaio imunoradioativo (Schuntner & Leach, 1988; Schuntner & Wright, 1989)	X	X

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERCAULT, T.E.; ROBY, T.O. A rapid card agglutination test for anaplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v.153, n.12, p.1828-1834, 1968.
- BARRY, D.N.; RODWELL, B.J.; TIMMS, P.; MCGREGOR, W. A microplate enzyme immunoassay for detecting and measuring antibodies to *Babesia bovis* in cattle serum. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v.59, p.136-140, 1982.
- BÖSE, R.; JACOBSON, R.H.; GALE, K.R.; WALTISBUHL, D.J.; WRIGHT, I.G. An improved ELISA for detection of antibodies against *Babesia bovis* using either native or a recombinant *B. bovis* antigen. **Parasitology Research**, Berlin, v.76, p.648-652, 1990.
- CHIEVES, L.; WAGNER, G.G.; BYERS, P.T.; FRERICHS, W.M. Rapid card test for bovine babesiosis. In: NATIONAL VETERINARY HEMOPARASITE DISEASE CONFERENCE, 8., 1989, St. Louis. **Proceedings...** [S.l. : s.n.], 1989. p.341-351.
- CURNOW, J.A. The use of a slide agglutination test to demonstrate antigenic differences between *Babesia bigemina* parasites. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v.49, p.290-293, 1973.
- DALGLIESH, R.J. Babesiosis. In: WARREN, K.S. ed. **Immunology and molecular biology of parasitic infections**. 3rd ed. Boston : Blackwell, 1993, p.352-383.

- DUZGUN, A.; SCHUNTNER, C.A.; WRIGHT, I.G.; LEACH, G.; WATISBUHL, D.J. A sensitive ELISA technique for the diagnosis of *Anaplasma marginale* infections. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.29, p.1-7, 1988.
- DWIVEDI, S.; GAUTAN, O.P. A note on comparative efficacy of indirect haemagglutination (IHA), capillary tube agglutination (CA), and indirect fluorescent antibody (IFA) tests in the diagnosis of experimental babesiosis in calves. **Indian Veterinary Journal**, Madras, v.59, p.404-406, 1982.
- FAHRIMAL, Y.; GOFF, W.L.; JASMER, D.P. Detection of *Babesia bovis* carrier cattle by using polimerase chain reaction amplification of parasite DNA. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.30, p.1374-1379, 1992.
- FIGUEIROA, J.V.; CHIEVES, L.P.; JONHSON, G.S.; BUENING, G.M. Detection of *Babesia bigemina* infected carriers by polimerase chain reaction amplification. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.30, p.2576-2582, 1992.
- FRANKLIN, T.E.; HECK, F.C.; HUFF, J.W. Anaplasmosis complement fixation antigen production. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.24, p.483-487, 1963.

GOFF, W.L.; WINWARD, L.D. A modified indirect fluorescent antibody test for the diagnosis of *Anaplasma marginale* infections in cattle: comparison with complement fixation and card agglutination. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE WORLD ASSOCIATION OF VETERINARY DIAGNOSTICIANS, 3., 1983, Ames. **Proceedings...** [S.l. : s.n., 1983?] p.655-672.

GOFF, W.L.; PALMER, G.H.; McELWAIN, T.F.; DAVIS, W.C. Development of ELISA diagnostic tests for *Babesia* infections, using highly immunogenic species-specific and strain common surface glycoproteins. In: NATIONAL VETERINARY HEMOPARASIT DISEASE CONFERENCE, 8., 1989. St. Louis. **Proceedings...** St. Louis Veterinary Hemoparasitic Disease Research Workers. p.353-376, 1989.

GOFF, W.L.; STILLER, D.; ROEDER, R.A.; JOHNSON, L.W.; FALK, D.; GORHAN, J.R.; McGUIRE, T.C. Comparison of DNA probe, complement-fixation and indirect immunofluorescence tests for diagnosing *Anaplasma marginale* in suspected carrier cattle. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.24, p.381-390, 1990.

GOODGER, B.V. Preparation and assessment of purified antigens in the passive hemagglutination test for bovine babesiosis. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v.47, p.251-255, 1971.

GOODGER, B.V.; MAHONEY, D.F. A rapid slide agglutination test for the herd diagnosis of *Babesia argentina* infection. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v.50, p.250-254, 1974.

- KUNG'U, M.W.; GOODGER, B.V. A slide enzyme linked immunosorbent assay (SELISA) for the diagnosis of *Babesia bovis* infections and for screening of *Babesia* specific monoclonal antibodies. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.20, n.3, p.341-345, 1990.
- LOPEZ, G.V.; TODOROVIC, R.A. Rapid latex agglutination (RLA) test for the diagnosis of *Babesia argentina*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.4, p.1-9, 1978.
- MADRUGA, C.R.; KESSLER, R.H.; MIGUITA, C.T.; MIGUITA, M. **Avaliação preliminar do teste de aglutinação rápida para o diagnóstico de anticorpos contra *Babesia bigemina***. Campo Grande : EMBRAPA-CNPGC, 1987. 6p. (EMBRAPA-CNPGC. Pesquisa em Andamento, 37).
- MADRUGA, C.R.; KESSLER, R.H.; MIGUITA, C.T.; MIGUITA, M. Teste de aglutinação rápida para o diagnóstico de anticorpos contra *Babesia bovis*. Produção de antígeno e avaliação do teste. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.1, n.0, p.21, 1991.
- MADRUGA, C.R.; KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M.; HONER, M.R.; MIGUITA, M. Análise de desempenho dos testes de congutinação rápida para detecção de anticorpos contra *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.47, p.649-657, 1995.

MADRUGA, C.R.; MARQUES, A.P.C.; MIGUITA, M.; KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M. Evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay to detect antibodies against *B. bovis*. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15., 1996 Campo Grande. **Resumos**. [S.l.] : Associação Panamericana de Ciências Veterinárias, [1996?a]. p.317.

MADRUGA, C.R.; MARQUES, A.P.C.; MIGUITA, M.; SCHENK, M.A M.; KESSLER, R.H. A preliminary evaluation of na enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies against *Anaplasma marginale*. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15., 1996, Campo Grande. **Resumos**. [S.l.] : Associação Panamericana de Ciências Veterinárias, [1996?b]. p.207.

MAHONEY, D.F. Bovine babesiosis. Diagnosis of the infection by complement fixation test. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v.38, p.48-52, 1962.

MAHONEY, D.F. The diagnosis of babesiosis in Australia. In. WORKSHOP ON HEMOPARASITES (ANAPLASMOSIS AND BABESIOSIS). Cali : CIAT, 1975. p.49-62.

MAHONEY, D.F.; GOODGER, B.V. *Babesia argentina*: serum changes in infected calves. **Experimental Parasitology**, New York, v.24, p.375-382, 1969.

- MAHONEY, D.F.; KERR, J.D.; GOODGER, B.V.; WRIGHT, I.G. The immune response of cattle to *Babesia bovis* (Syn. *Babesia argentina*). Studies on the nature and specificity of protection. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.9, p.297-306, 1979.
- MONTENEGRO, S.; JAMES, M.A.; LEVY, M.G.; PRESTON, M.D.; ESPARZA, H.; RISTIC, M. Utilization of culture derived soluble antigen in the latex agglutination test for bovine babesiosis and anaplasmosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.8, p.291-297, 1981.
- MONTENEGRO-JAMES, S.; GUILLEN, T.; MA, S.J.; TAPANG, P.; ABDEL-GAWAD, A.; TORO, M.; RISTIC, M. Use of Dot-Elisa with isolated *Anaplasma marginale* initial bodies for the serodiagnosis of bovine anaplasmosis. In: NATIONAL VETERINARY HEMOPARASITE DISEASE CONFERENCE, 8., 1989, St. Louis, **Proceedings...** [S.l. : s.n.], 1989. p.265-279.
- PALMER, G.H.; McELWAIN, T.F.; McGUIRE, T.C.; HAPPMEYER, L.; DAVIS, W.C.; STILLER, D.; VISSER, E.; TEBELE, N.; NDUNG'U, L.; PIPANO, E.; SHARP, V.; KNOWLES, D.P. Recent advances in serological diagnosis of anaplasmosis: development of the msp-5 competitive inhibition ELISA. In: VILENBERG, G.; PERMIN, A.; HANSEN, J.W., ed. **Use of applicable biotechnological methods for diagnosing hemoparasites**. Rome : FAO, 1994. p.102-104.

- PETCHPOO, W.; TAN-ARIA, P.; BOONSAENG, V.; BROCKELMAN, C.R.; WILAIRAT, P.; PANYIN, S. A specific DNA probe which identifies *Babesia bovis* in whole blood. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.42, p.189-198, 1992.
- RISTIC, M. A capillary tube-agglutination test for anaplasmosis. Preliminary Report. **Journal American of the Veterinary Medical Association**, Chicago, v.141, p.588-594, 1962.
- SCHUNTNER, C.A.; LEACH, G. Radioimmunoassay for *Anaplasma marginale* antibodies in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.49, n.4, p.504-507, 1988.
- SCHUNTNER, C.A.; WRIGHT, I.G. Detection of *Babesia bigemina* in cattle by a radioimmunoassay incorporating specifically depleted antigens. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.31, p.229-241, 1989.

DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DA TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA

Ricardo A.A. Lemos¹

Luciano Nakazato²

Sandro Cesar Salvador³

O diagnóstico anatomopatológico é aquele realizado através dos achados de necropsia e histopatológicos. Na tristeza parasitária bovina estes achados variam com o agente etiológico.

Quando o agente envolvido for a *Babesia bovis*, os principais achados de necropsia são: mucosas e serosas acentuadamente pálidas, fígado e baço escuros, congestos e aumentados de volume, vesícula biliar distendida e os linfonodos aumentados e escuros. Os rins podem estar aumentados e escuros e a urina avermelhada. Estes últimos achados, na maioria das vezes, ocorrem na fase terminal da doença, de modo que alguns animais podem morrer antes mesmo de apresentar estas alterações. O cérebro pode apresentar acentuada congestão da rede capilar e, também, da substância cinzenta, que torna-se caracteristicamente avermelhada. Neste caso, a enfermidade é conhecida como **babesiose cerebral**, o aspecto morfológico do cérebro é patognomônico para infecção com *Babesia bovis* em bovinos. Em determinadas ocasiões, a morte pode ocorrer em

¹ Professor Assistente da disciplina de Anatomia Patológica da UFMS, Caixa Postal 649, 79070-900 Campo Grande, MS

² Professor Substituto na disciplina de Anatomia Patológica da UFMS

³ Professor Substituto na disciplina de Toxicologia e Plantas Tóxicas da UFMS

decorrência de coagulação intravascular disseminada (CID) e, nesses casos, observam-se hemorragias generalizadas.

Na babesiose causada por *Babesia bigemina*, as mucosas, serosas e a carcaça apresentam-se anêmicas (pálidas) podendo estar concomitantemente ictéricas (amareladas), de modo que nestes casos a icterícia é mais evidente. A exemplo da babesiose causada por *B. bovis*, o fígado e o baço apresentam-se aumentados de volume e congestos, a vesícula biliar distendida, os linfonodos aumentados e escuros, rins aumentados e escuros, e a urina vermelho-escura (cor de coca-cola).

Nos casos de anaplasnose, a carcaça apresenta-se ictérica (amarelada), com o fígado e o baço aumentados de volume. Em casos superagudos pode-se não observar icterícia, apenas severa anemia caracterizada por intensa palidez da carcaça. A urina não apresenta alteração de coloração.

Histologicamente, nenhum dos agentes apresenta alterações específicas. Em todos os agentes pode-se observar congestão em diferentes órgãos e presença de pigmento biliar no fígado. Nos casos de babesiose (*B. bovis* ou *B. bigemina*) nota-se presença de material eosinofílico e/ou alaranjado na luz de túbulos renais, bem como alterações degenerativas no epitélio tubular dos rins. Como foi mencionado anteriormente, a babesiose por *B. bovis* pode levar ao quadro de coagulação intravascular disseminada, podendo-se observar, histologicamente, a formação de numerosos microtrombos nos capilares de diversos órgãos.

Com exceção da babesiose cerebral, os achados anatomopatológicos na babesiose e na anaplasnose não são

patognomônicos, além de serem extremamente variáveis quanto à intensidade, devido à cepa do agente e à susceptibilidade do hospedeiro. Desta forma, para elaboração de um diagnóstico conclusivo, é necessária a identificação do agente através de exame laboratorial. Esta confirmação pode ser realizada durante a necropsia através de *imprints* de diferentes órgãos (cérebro, baço, rins e fígado) em lâminas de vidro. O *imprint* deve ser fixado em álcool metílico, por 3-5 minutos e, posteriormente, corado por Giemsa. Em condições de campo pode-se realizar o *imprint*, fixar em álcool metílico e, após, remeter ao laboratório de diagnóstico. Após fixadas em metanol, as lâminas podem permanecer por longos períodos até serem coradas, sem maiores prejuízos. Os esfregaços não devem permanecer no ambiente, expostos à ação de insetos.

Por outro lado, é importante a realização do diagnóstico diferencial com outras enfermidades que causam anemia e/ou icterícia, dentre as quais destacamos as seguintes: leptospirose, intoxicação por fedegoso (*Senna occidentalis*), hemoglobinúria bacilar, intoxicação por cobre, intoxicação por samambaia (*Pteridium aquilinum*), trombocitopenia aguda severa e diatesis hemorrágica associada ao vírus da diarreia viral bovina (DVB), e intoxicação por *Brachiaria* sp.

Em bovinos, a leptospirose caracteriza-se, principalmente, por abortos. Casos de icterícia e hemoglobinúria podem ocorrer ocasionalmente em bezerros. O diagnóstico deve ser confirmado pelo isolamento do agente de órgãos e urina de animais afetados, ou através de sorologia pareada.

Em casos naturais de intoxicação por fedegoso (*Senna occidentalis*), em bovinos, a mioglobínúria é um achado clínico e patológico freqüente, que pode ser confundido, em condições de campo, com hemoglobínúria. Entretanto, esta intoxicação produz lesões musculares macro e microscópicas características, não observadas na tristeza parasitária.

A intoxicação subaguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*), em bovinos, pode provocar hemangiomas na bexiga os quais levam à hematúria (hematúria enzoótica). Pode-se realizar o diagnóstico diferencial através do exame de sedimentação de urina (na hemoglobínúria a coloração vermelha permanece, na hematúria as hemácias vão para o fundo e a urina adquire novamente coloração normal) e, também, da presença de lesões tumorais na necropsia de bovinos intoxicados de forma subaguda por samambaia. A intoxicação aguda pela samambaia deve ser diferenciada de casos de babesiose que apresentam hemorragia generalizada em consequência da coagulação intravascular disseminada (CID).

A hemoglobínúria bacilar, causada por *Clostridium haemolyticum*, pode apresentar quadro clínico-patológico semelhante à tristeza parasitária bovina. No entanto, esta enfermidade está associada à presença de *Fasciola hepática* e apresenta infartos característicos no fígado, observados na necropsia. O diagnóstico deve ser confirmado pela identificação do agente.

A intoxicação por cobre causa quadro clínico patológico de icterícia e hemoglobínúria. Esse é um problema freqüente em ovinos, mas muito raro em bovinos, ocorrendo apenas acidentalmente quando são cometidos erros na formulação de rações ou misturas minerais,

levando os animais a ingerir quantidades muito elevadas deste elemento. O diagnóstico é confirmado pela dosagem do cobre no soro, fígado e rim dos animais intoxicados.

Determinadas cepas do vírus da diarreia viral bovina podem provocar quadros de trombocitopenia, com hemorragias generalizadas seguidas de diarreia. Estas cepas podem ser, ocasionalmente, confundidas com aqueles casos de babesiose que levam à coagulação intravascular disseminada (CID). Esta forma de DVB ainda não foi descrita no Brasil, embora casos sugestivos tenham sido observados no Rio Grande do Sul. À necropsia pode-se realizar o diferencial pela observação de lesões características do vírus da diarreia viral bovina (ulcerações do trato digestivo) sendo o diagnóstico confirmado pelo isolamento do vírus.

Casos de intoxicação por plantas do gênero *Brachiaria* (*Brachiaria decumbens* e *B. radicans*) podem produzir icterícia e/ou hemoglobinúria. A intoxicação por *B. decumbens* é quase que invariavelmente associada à fotossensibilização hepatógena, a qual não ocorre na babesiose. A hemoglobinúria é a principal alteração descrita na intoxicação pela *B. radicans*. Neste caso o diagnóstico deve ser confirmado pelo histórico de pastejo contínuo dos animais em pastagens formadas exclusivamente pela planta e exclusão de outras possíveis causas de hemoglobinúria. No que se refere à babesiose, esta exclusão deve ser feita pela ausência de quantidades significativas do protozoário através dos exames laboratoriais acima mencionados.

Para melhor compreensão dos achados anatomopatológicos da TPB ver as Fig. 1 a 8.



FIG. 1. Bovino. *Babesia bovis*. Mucosa ocular acentuadamente pálida.



FIG. 2. Bovino. *Babesia bigemina*. Mucosa ocular amarelada (icterícia).

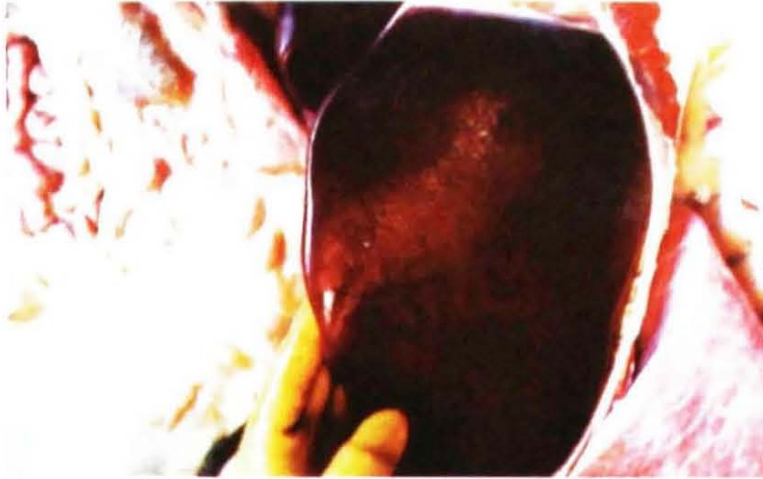


FIG. 3. Bovino. *Babesia bigemina*. Fígado escuro e aumentado de volume (bordas arredondadas).



FIG. 4. Bovino. *Anaplasma marginale*. Baço aumentado de volume.



FIG. 5. Bovino. *Babesia bigemina*. Rim aumentado de volume e vermelho enegrecido.



FIG. 6. Bovino. *Babesia bigemina*. Urina vermelho-escura ("cor de coca-cola")

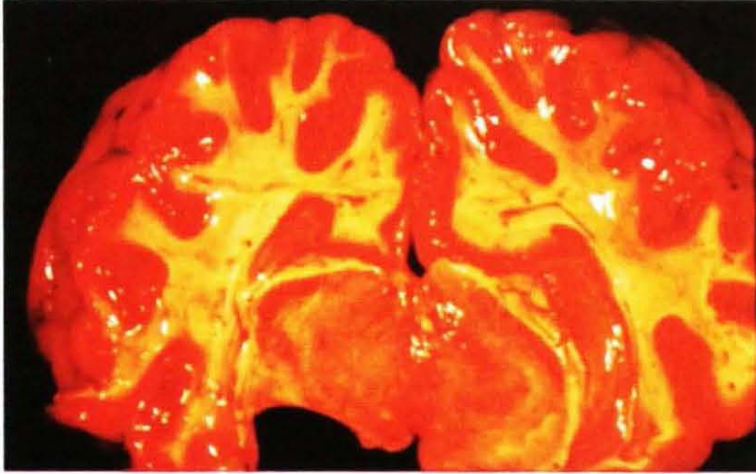


FIG. 7. Bovino. *Babesia bovis*. Substância cinzenta acentuadamente avermelhada (Foto cedida pelo prof. Cláudio S.L. de Barros - UFSM)

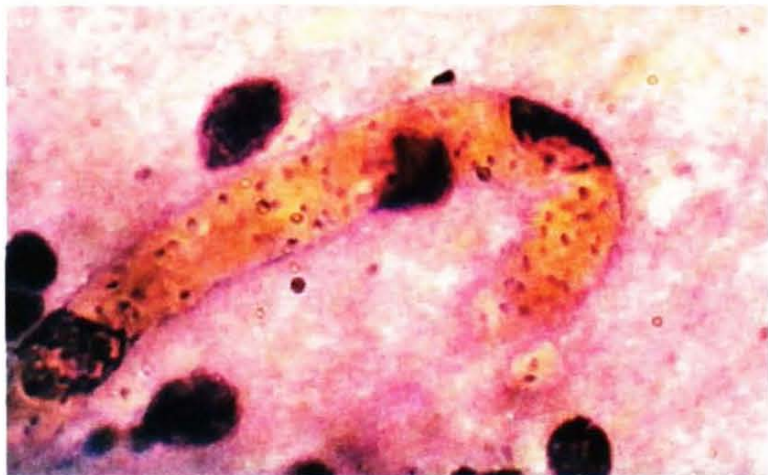


FIG. 8. Bovino. *Babesia bovis*. Hemácias parasitadas em capilar do cérebro (Imprint) (Foto cedida pelo prof. Cláudio S.L. de Barros - UFSM)

LITERATURA CONSULTADA

- BARROS, C.S.L. Intoxicações por plantas que afetam o sistema muscular. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. del C.; SCHILD, A.L. **Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos**. Montevideo : Hemisferio Sur / Pelotas : Hemisfério Sul, 1993. v.1, p.201-213.
- FARIAS, N.A.R. **Diagnóstico e controle de tristeza parasitária bovina**. Guaíba : Agropecuária, 1995. 80p.
- FERREIRA, J.L.M.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; DELGADO, L.E. **Laboratório regional de diagnóstico. Doenças diagnosticadas no ano de 1990**. Pelotas : UFPel, 1991. 53p.
- GAVA, A. Intoxicação por *Brachiaria radicans*. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. del C.; SCHILD, A.L. **Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos**. Montevideo : Hemisferio Sur / Pelotas : Hemisfério Sul, 1993. v.1, p.319-322.
- GAVA, A. Intoxicações por plantas de ação anti-hematopoética e mutagênica. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. del C.; SCHILD, A.L. **Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos**. Montevideo : Hemisferio Sur / Pelotas : Hemisfério Sul, 1993. v.1, p.247-257.
- JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4.ed. London : Academic Press, 1993. v.3.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. **Veterinary Medicine.**
8.ed. London : Baillière Tindall, 1994. 1763p.

SCHILD, A.L.; RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; RIBEIRO, W.N.;
MEIRELES, M.C.A. **Laboratório regional de diagnóstico. Doenças
diagnosticadas no ano de 1985.** Pelotas : UFPel, 1986. 30p.

INFUSÃO



KABA



FURACIN SOLUÇÃO



GENTOCIN 40mg

PARENTERAL



QUEMICETINA INJETÁVEL



QUEMICETINA SUCCINATO

**Ainda está para nascer
um tratamento melhor para
infecções no pós-parto.**



Com esses produtos, seus animais vão continuar férteis no período reprodutivo. Porque não tem nada melhor contra infecções uterinas pós-parto e do trato reprodutivo do que os Antibióticos Schering-Plough. Seja o tratamento por infusão ou parenteral, o remédio está aqui.

Consultar o médico veterinário. É indispensável para uso de qualquer medicamento no animal.



Schering-Plough Veterinária
PESQUISA E QUALIDADE TOTAL

Central
de Atendimento
0800-117788
Schering-Plough
C. Postal 18388 CEP 04699-970



A melhor aplicação pra quem quer valorizar ao máximo o seu rebanho.

NOVO



Cyclomec
USO VETERINÁRIO
EMBEZICIONA MISTURA PARA SUÍNOS À BASE DE ALBARNECTINA

Cyclomec
Seu novo Parceiro "da engorda a terminação"

CYCLOMEC® é o seu novo parceiro. A base de Albarnectina, com amplo espectro de ação contra os principais parasitos internos e externos. A tecnologia Schering-Plough confere a CYCLOMEC® uma inigualável garantia de qualidade e uma melhor relação custo x benefício, para você criador.



Supramec
O Parceiro Ideal "de mamando a caducando".

SUPRAMEC® é o endectocida a base de Ivermectina da Schering-Plough, que já comprovou sua eficácia e segurança, com mais de 6,5 milhões de animais tratados. SUPRAMEC®, "O parceiro ideal" para dar ainda mais valor ao seu gado.

aprovado

Supramec* & Cyclomec*
Os Endectocidas da Schering-Plough.

*Consultar o Médico Veterinário é indispensável para o uso correto de qualquer medicamento em seu animal



Central
de Atendimento
0800-117788
Schering-Plough
Ca. Postal 18508 - CEP 04099-970



Schering-Plough Veterinária
PESQUISA E QUALIDADE TOTAL



TRIPANOSSOMOSE

Trypanosoma vivax:
BIOLOGIA, DIAGNÓSTICO E CONTROLE

Roberto Aguilar Machado Santos Silva¹

Alberto Martin Rivera Davila²

INTRODUÇÃO

Os trópicos representam hoje as maiores reservas mundiais de biodiversidade. A biodiversidade, além de representar um recurso genético de valor inestimável, também contribui para a ocorrência de grande número de doenças. Os ambientes tropicais, onde geralmente o calor e a umidade são elevados, propiciam meios ideais ao desenvolvimento de microorganismos patogênicos, entre eles os tripanossomas e seus vetores. Os tripanossomas de importância econômica e médica, encontrados na América do Sul são: *Trypanosoma vivax*, *T. evansi*, *T. equiperdum*, *T. theileri* e *T. cruzi*. Entre eles o *T. evansi* e o *T. vivax* são um risco potencial para mais de 500 milhões de bovinos e 100 milhões de búfalos no mundo todo (Peregrine, 1994).

¹ Méd.Vet., M.Sc., Embrapa Pantanal, Caixa Postal 109, CEP 79320-900 Corumbá, MS

² Bolsista CNPq/RHAE

TAXONOMIA

Todos os hemoflagelados pertencem à família *Trypanosomatidae*. As espécies patogênicas do gênero *Trypanosoma* são divididas em duas seções, *Salivaria* e *Stercoraria*, de acordo com o seu desenvolvimento e forma de transmissão pela saliva ou fezes. Cada uma das seções é subdividida em subgênero e espécies. Losos (1986) sugere uma classificação prática dos tripanossomas de importância médica e veterinária, como se segue:

Salivaria

Subgênero *Duttonella*

Espécie: *Trypanosoma vivax*

Subgênero *Nannomonas*

Espécies: *Trypanosoma congolense*, *T. simiae*

Subgênero *Trypanozoon*

Espécies: *Trypanosoma brucei*, *T. rhodesiense*, *T. gambiense*, *T. evansi* e *T. equiperdum*

Subgênero: *Pycnomonas*

Espécie: *Trypanosoma suis*

Stercoraria

Subgênero *Schizotrypanum*

Espécie: *Trypanosoma cruzi*

MORFOLOGIA

Aparência externa

As formas tripomastigotas encontradas na corrente sangüínea são basicamente lancetadas. O corpo é alongado e achatado e suas extremidades são afiladas. A extremidade pela qual avança durante a locomoção é costumeiramente descrita como anterior final.

Citologia

As principais organelas de um tripanossoma são o núcleo, o cinetoplasto e o sistema mastigonte, representado pelo corpo basal e o flagelo.

CICLO VITAL

Os membros do gênero *Trypanosoma* são parasitas digenéticos, cujo ciclo vital envolve dois hospedeiros. Um destes, um animal vertebrado, é o hospedeiro final, enquanto diversos invertebrados hematófagos representam os hospedeiros intermediários ou vetores, os quais transmitem a infecção para novos hospedeiros vertebrados.

No caso da transmissão mecânica, as formas sangüíneas dos tripanossomas são transferidas diretamente, de um mamífero para outro, por insetos hematófagos (por exemplo *Tabanus* spp.) ou artificialmente por agulhas contaminadas com sangue infectado. Em contraste com a transmissão cíclica, que pode ser tão longa quanto

for a vida do vetor, a habilidade para transmitir mecanicamente os tripanossomas é de curta duração (geralmente mensurada em minutos), dependendo da sobrevivência dos parasitas nas peças bucais do inseto.

Ciclo no mamífero

O desenvolvimento dos tripanossomas nos hospedeiros mamíferos é relativamente simples. É iniciado pela introdução de metatripanossomas no hospedeiro. Isto pode ocorrer, passivamente, pela contaminação de membranas mucosas ou pele do hospedeiro mamífero (no caso de espécies *Stercoraria* como o *T. cruzi*) ou ativamente pela inoculação através de uma picada (no caso de espécies *Salivaria*, como, por exemplo, *T. evansi* e *T. vivax*).

Seção *Salivaria*

A reprodução desta seção, normalmente, toma lugar na corrente circulatória por fissão binária do estágio tripomastigota.

Os tripanossomas da seção *Salivaria* também são capazes de invadir tecidos dos seus hospedeiros, sendo regular a ocorrência de amastigotas e outros estágios.

Ciclo no inseto

Salivaria

Os tripanossomas *Salivaria*, *T. evansi* e *T. vivax*, encontrados na América do Sul, são transmitidos apenas mecanicamente.

DIAGNÓSTICO

Características para diagnóstico direto

A característica mais importante é a estrutura geral das formas sangüíneas, reveladas em preparações coradas e examinadas através da microscopia ótica. As diversas espécies de *Trypanosoma* podem diferir no tamanho e forma do corpo, na posição do núcleo e cinetoplasto, bem como no grau do desenvolvimento da membrana ondulante e do flagelo.

Alguns índices são úteis para definir a posição do núcleo e do cinetoplasto. Um desses índices é o índice nuclear (NI). O NI representa a razão da distância do posterior final do corpo para o núcleo (PN) e do núcleo para o anterior final (NA). Assim, $NI = PN/NA$. Quando $NI = 1$, o núcleo está no meio do corpo. Quando é < 1 , está na parte posterior e quando é > 1 está na parte anterior. O índice cinetoplástico (KI) se obtém dividindo-se a distância desde o posterior final ao núcleo (PN) pela distância desde o cinetoplasto ao núcleo (KN) ($KI = PN/KN$). Se o KI é igual a 2, o cinetoplasto está no meio dos dois, se menor que 2 está mais próximo ao posterior final, e se é maior que 2 o cinetoplasto está mais próximo ao núcleo (Hoare, 1972) (Fig.1). No Pantanal de Mato Grosso do Sul, um isolado de *T. evansi* de cão, e na Bolívia um isolado de *T. vivax*, têm sido encontrados com um comprimento total inferior aos descritos por Hoare (1972).

Métodos de diagnóstico parasitológico

◆ Método do "aspirado" do linfonodo

O linfonodo mais fácil de manipular em bovinos é o pré-escapular. Utiliza-se uma seringa de 2 ml com uma agulha 21 G X de 1 ½ polegadas, contendo 1 ml de solução salina estéril. Localiza-se o linfonodo pré-escapular e desinfecta-se a região com álcool ou com iodo, deixando-se secar. Fixa-se o linfonodo entre os dedos indicador e polegar e, com a mão livre, pega-se o sistema seringa-agulha, introduz-se a agulha no linfonodo até a metade do seu comprimento, e injeta-se o soro. Logo após, segurando ainda o linfonodo, retira-se o líquido que se constitui numa mistura de sangue e soro. Nunca se obtém 100 % do volume injetado. Com o líquido obtido, preparam-se esfregaços grossos, os quais serão corados pelo método de Giemsa.

◆ Método da gota espessa

Para este método, deve-se usar sangue periférico. Coloca-se uma pequena gota de sangue sobre uma lâmina e, com um palito, faz-se movimentos circulares, esticando a gota de maneira que fique com um diâmetro de 6 mm. Coloca-se a lâmina na estufa a 100°C, durante 30 minutos, para fixar a preparação. Posteriormente, cora-se com Giemsa sem fixar com álcool metílico. Na lâmina, o tripanossoma fica livre de eritrócitos, observando-se unicamente glóbulos brancos e plaquetas ao seu redor.

- ◆ **Método da lâmina delgada**

Coloca-se uma gota do sangue numa lâmina a uma distância de aproximadamente 1-2 cm de uma das bordas. A gota é espalhada até o lado final oposto. Isto é feito tracionando-se a gota com outra lâmina colocada sobre a primeira num ângulo de 45°. São recomendáveis esfregaços de camada fina, pois facilitam a leitura por apresentarem as células mais dispersas.

- ◆ **Método de Woo ou do Microhematócrito**

Preenche-se aproximadamente 2/3 do volume de um tubo capilar com o sangue a ser testado. É recomendável montar dois capilares por cada amostra de sangue. Sela-se com fogo ou com massa de modelagem uma das extremidades. Centrifuga-se e logo realiza-se a leitura ao microscópio. Pode-se montar uma lâmina, quebrando-se o tubo capilar na interface entre a parte líquida e a parte celular. Coloca-se uma ou duas gotas deste material numa lâmina e faz-se o esfregaço, o qual será corado e examinado ao microscópio, com objetiva de imersão.

Métodos de diagnóstico sorológico

Os métodos sorológicos têm limitações na sua utilização como diagnóstico da tripanossomose.

Após o tratamento, os anticorpos permanecem no plasma por mais de um ano, o que dificulta saber se trata-se de uma nova infecção ou se são anticorpos residuais de uma infecção passada e já curada.

Os métodos de diagnóstico sorológico mais comumente utilizados para a detecção de anticorpos contra o *T. vivax* são: imunofluorescência indireta e ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

O ELISA de captura de antígeno (Ag-ELISA) para tripanossomas africanos não é espécie-específico e/ou não é suficientemente sensível para servir de ajuda no diagnóstico de tripanossomoses no gado. A detecção de anticorpos nas infecções com tripanossomas não é espécie-específica. As reações cruzadas têm sido descritas entre todos os tripanossomas da seção salivaria. O Ag-ELISA apresenta de 5-30% de resultados falsos positivos (M. Desquesnes, comunicação pessoal).

Métodos de diagnóstico molecular

A acurada identificação e caracterização dos parasitas é de fundamental importância quando se estuda a epidemiologia dos tripanossomas.

Segundo o Dr. Phelix Majiwa do ILRI - International Livestock Research Institute (comunicação pessoal), o diagnóstico baseado no DNA oferece altos níveis de especificidade, quando combinado com o PCR (Polymerase Chain Reaction). Várias seqüências espécie-específicas têm sido identificadas e permitem detectar pequenas quantidades de parasitas nas amostras.

A técnica "Random Amplified Polymorphic DNA" (RAPD) é considerada para estudos taxonômicos por ter um grande potencial na detecção de DNA polimórfico. Os produtos gerados pelo RAPD podem

ser usados na construção de mapas genéticos que demonstram as relações taxonômicas. Para fins epidemiológicos, os resultados do RAPD e "Pulsed Field Gel Electrophoresis" (PFGE) podem ser combinados e reanalisados para produzir uma relação mais acurada entre os isolados (Boid et al., 1996).

EPIZOOTIOLOGIA, PATOGENIA E TRATAMENTO DO *Trypanosoma vivax*

Na África, o *T. vivax* é encontrado em toda a área ocupada pela mosca tsé-tsé. No Oeste da África, o *T. vivax* é considerado o mais patogênico e importante tripanossoma dos bovinos. Ele, contudo, tem se expandido para outras áreas da África, América Central, América do Sul e Caribe. A primeira ocorrência do *T. vivax* nas Américas foi na Guiana Francesa em 1919 e, mais tarde, em outros países da América do Sul, Central, e algumas ilhas do Caribe. A tripanossomose bovina causada pelo *T. vivax* afeta a saúde animal e produtividade na Colômbia e Venezuela.

No Brasil, a ocorrência do *T. vivax* foi registrada, pela primeira vez, por Shaw & Lainson (1972) em um búfalo (*Bubalis bubalis*) nas proximidades da cidade de Belém, Pará.

Epizootiologia

O *T. vivax* infecta um grande número de espécies de ungulados selvagens e domésticos. Na África, é o responsável pela

tripanossomose em eqüinos, bovinos e outros ruminantes. Os camelos são também susceptíveis ao *T. vivax*. Os cães e porcos são refratários ao mesmo.

Este tripanossoma é transmitido, ciclicamente, pela mosca tsé-tsé e, mecanicamente, por outras moscas hematófagas. As moscas dos estábulos e os tabanídeos ("mutucas"), podem ser vetores nas Américas e nas áreas da África onde não ocorre a mosca tsé-tsé (Levine, 1973).

O *T. vivax* causa a mais importante forma de tripanossomose em bovinos no Oeste da África, e surtos agudos têm sido também relatados no Leste da África (Losos & Ikede, 1972). O *T. vivax* tem sido identificado no Novo Mundo desde 1919 (Leger & Vienne, 1919). A teoria mais aceita é a que este parasita foi introduzido com um rebanho vindo do Senegal (África) em 1830. Depois difundiu-se de um país a outro por meio de translaços de bovinos. Até 1976, a sua distribuição abrangia todos os países da costa Norte do Oceano Atlântico, além do Panamá, Brasil e as Ilhas de Guadalupe e Martinica (Wells et al., 1982).

Há uma associação temporal entre a estação das chuvas, quando moscas hematófagas, particularmente *Tabanidae*, são abundantes e um aumento na prevalência do *T. vivax* no gado bovino. No Pantanal, estudos demonstraram que o pico populacional dos *Tabanidae* ocorre na primeira metade da estação chuvosa, de setembro/outubro a dezembro/janeiro. Contudo os tabanídeos ainda permanecem em grande número até o final da estação. Esta estação representa o período de maior risco de transmissão de tripanossomas

por estes insetos devido a sua abundância, bem como pelo pique populacional de espécies de alto potencial como vetor, como é o caso do *Tabanus importunus* (Silva et al, 1995b).

Patogenia

O *T. vivax* pode provocar uma doença fatal associada a uma alta e persistente parasitemia (Losos & Ikede, 1972). Resposta imune reduzida, hemorragia e anemia têm sido verificadas em bovinos infectados com *T. vivax* (ILRAD, 1984; Whitelaw, 1979).

Na forma aguda, os animais morrem dentro de 5 semanas e apresentam alta temperatura, letargia, fraqueza, anemia, perda na condição física, lacrimação, diarreia que tem sido relatada em animais que morreram 37 a 58 dias após a infecção experimental, e aborto. A perda de peso pode ser substancial em curto espaço de tempo e tem sido observado que o gado zebu puro desenvolve alta parasitemia, com a doença terminando em morte.

Surtos de tripanossomose bovina por *T. vivax* em áreas inundáveis da Bolívia e Pantanal

Em 1995 o *T. vivax* foi encontrado no município de Poconé, localizado no norte do Pantanal (Silva et al., 1995b, 1996). Posteriormente, ele foi encontrado em outros municípios do Estado de Mato Grosso. Em fazendas localizadas no Pantanal de Poconé ocorreram surtos de aborto, substancial perda de peso em curto espaço de tempo, anemia e mortes. Os principais sintomas clínicos observados foram letargia, diarreia, perda de apetite, fraqueza,

lacrimação, conjuntivite, aborto e perda da condição física. Alguns animais apresentaram substancial perda de peso em curto período de tempo, enquanto outros apresentavam a forma crônica da doença por 4 a 6 meses, com emaciação e caquexia. Dos 29 bovinos examinados pela técnica do microhematócrito, 10 (34,48%) foram positivos para *Trypanosoma vivax*.

Recentemente, o *T. vivax* tem sido encontrado no sul do Pantanal. Seu diagnóstico foi feito através do teste do microhematócrito e esfregaços sangüíneos finos, apresentando uma prevalência de 80,95% (17/21) e 50,00% (1/2) dos bovinos de duas fazendas localizadas nas microrregiões do Nabileque e Paiaguás do Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, respectivamente. Os sinais clínicos observados foram febre, anemia, fraqueza progressiva, perda do apetite, letargia, substancial perda de peso em curto espaço de tempo.

Entre janeiro e maio de 1996, numerosos casos de abortos, perda progressiva de peso, intensa anemia e morte de bovinos foram registrados em várias províncias do Departamento de Santa Cruz, na Bolívia. Inicialmente, o agente etiológico foi identificado como *T. evansi*. Embora os bovinos possam se infectar com esse parasita, freqüentemente não é observada a enfermidade clínica. O *T. vivax* foi encontrado em esfregaços de sangue de bovinos enviados ao LIDIVET, Bolívia, bem como em amostras de sangue coletadas de bovinos na região da Laguna Concepción e posteriormente processadas pelo método de Woo.

Como na África, há uma associação temporal entre a estação das chuvas quando moscas hematófagas, particularmente *Tabanidae*, são abundantes, e um aumento na prevalência do *T. vivax* no gado bovino. No Departamento de Santa Cruz e no Pantanal, os estudos demonstraram que os *Tabanidae* ocorrem em abundância, 35 e 25 espécies, respectivamente. Então é provável que a estação das chuvas represente o período de maior risco de transmissão de tripanossomas por estes insetos, devido a sua abundância, bem como pelo pique populacional de espécies de alto potencial como vetor, como é o caso do *Tabanus importunus* encontrado na região. O *T. vivax* também infecta várias espécies de antílopes, para os quais não é patogênico. Em algumas regiões do Departamento de Santa Cruz, a fauna de ungulados (principalmente cervídeos) parece ser rica e estes animais poderiam servir como importantes reservatórios.

MÉTODOS DE CONTROLE DAS TRIPANOSSOMOSES

A enfermidade pode ser controlada efetivamente com agentes quimioterápicos ou quimioprofiláticos, bem como com o controle dos artrópodes vetores.

Durante décadas, vários métodos de controle, tais como desmatamento, uso de machos estéreis e armadilhas impregnadas com inseticidas para o controle dos vetores, pulverização de inseticidas nos animais, na vegetação, uso de inseticidas *pour-on* e quimioprofilaxia foram tentados na África. Porém, atualmente, apenas

a quimioprofilaxia e o controle dos vetores com drogas *pour-on* e armadilhas impregnadas com inseticidas continuam sendo usadas.

Controle através de drogas tripanocidas

A quimioterapia é provavelmente o mais importante método pelo qual a tripanossomose é controlada em animais domésticos. O tratamento e a profilaxia da enfermidade nos bovinos, ovinos e caprinos é correntemente dependente de sais de três compostos: homidium, isometamidium e dimenazene. Os sais de suramin, quinapiramina e melarsomina são usados terapeuticamente em camelos, eqüinos e búfalos (Peregrine & Mamman, 1993).

O tratamento da tripanossomose pode ser curativo, usando uma droga que dá pouca ou nenhuma ação residual ou preventiva. A diferença entre cura e prevenção depende da droga que está sendo usada e, em alguns casos, da dosagem que está sendo administrada. Algumas drogas são armazenadas nos tecidos e, por uma lenta liberação na corrente circulatória, mantêm a concentração do composto ativo suficiente para controlar os tripanossomas (Peregrine, 1994). As drogas curativas são usadas quando a incidência é baixa, quando somente poucos casos ocorrem em um rebanho durante o período de um ano ou quando o tratamento de poucos casos ocorre principalmente durante uma estação, a qual geralmente é a das chuvas.

- ◆ Tratamento profilático

A profilaxia ou prevenção é requerida quando o gado está sob constante risco e quando a enfermidade ocorre em um alto nível durante o ano todo (Boyt, 1986).

- ◆ Compostos correntemente em uso

A atual quimioterapia para a tripanossomose em animais domésticos depende de seis compostos, alguns dos quais são quimicamente relacionados. O dimenazene, homidium e isometamidium são primariamente usados para o tratamento e profilaxia da tripanossomose em bovinos, ovinos e caprinos. A quinapiramina, suramin e melarsomina são primariamente usados como agentes terapêuticos para infecções com *Trypanosoma evansi*, embora a quinapiramina seja também usada para propósitos profiláticos. Estes três últimos compostos têm seu uso geralmente restritos a camelos, eqüídeos e búfalos (Peregrine, 1994). A Tabela 1 lista as drogas tripanocidas, sua dosagem, o nome comercial citado na literatura internacional, a espécie animal e a espécie do parasita contra o qual é usada. A Tabela 2 lista as drogas tripanocidas disponíveis no mercado brasileiro.

TABELA 1 Compostos quimioterapêuticos e quimioproláticos usados para a tripanossomose animal (Peregrine, 1994).

Compostos	Nome Comercial	Dosagem mg/kg	Rota	Uso	Especificidade	Animal
Diaceturato de Dimenazene	Bernal [®] Veribem [®] Ganaseg [®] Diaseg [®] Ganatet [®] *	3,5-7,0	i.m.	T	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. evansi</i> (<i>T. brucei</i>)	Bovinos Pequenos ruminantes [Cães] [Eqüideos]
Brometo de Homidium	Ethidium [®]	1,0	i.m.	T/P	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i>	Bovinos Pequenos Ruminantes [Eqüideos]
Cloreto de Homidium	Novidium [®]	1,0	i.m.	T/P	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i>	Bovinos Pequenos Ruminantes [Eqüideos]
Cloreto de Isometamidium	Samorim [®] Trypamidium [®]	0,25-0,5 0,5-1,0	i.m. i.m.	T P	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i> <i>T. evansi</i>	Bovinos Pequenos Ruminantes Eqüideos Camelos
Dimetilsulfato de Quinapiramina	Trypacide sulphate [®]	3,0-5,0	s.c.	T	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i> <i>T. evansi</i> <i>T. simiae</i>	Suínos Cães Eqüideos Camelos

continuação Tabela 1

Compostos	Nome Comercial	Dosagem mg/kg	Rota	Uso	Especificidade	Animal
Dimetilsulfato de Quinapiramina: Cloreto (3:2)	Trypacide Pro-salt®	3,0-5,0 ^b	s.c.	P	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i> <i>T. evansi</i> <i>T. simiae</i>	Suínos Cães Eqüídeos Camelos
Suramin	Naganol®	7.0-10.0 ^c	i.v.	T(P)	<i>T. evansi</i>	Camelos Eqüídeos
Melarsomina	Cymellarsan	0,25	s.c./i.m.	T	<i>T. evansi</i>	Camelos

i.m.: intramuscular; s.c.: subcutâneo; i.v.: intravenoso; T: agente terapêutico; P: agente profilático; (): atividade limitada; []: pequeno índice terapêutico.

^aProfilaxia observada com baixo desafio de Tsé-tsé.

^bDosagem do sulfato.

^cGramas por animal.

* Ganatet ®: Dimenazene em associação com Tetraciclina.

TABELA 2. Produtos usados no tratamento das tripanossomoses por *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* disponíveis no mercado brasileiro.

Nome Comercial	Especificidade	Fabricante
Beronal	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i>	Quimio Produtos Quimicos Com. Ind. Ltda.
Tristeril	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i>	Probion - Ind. de Medicamentos Veterinarios Ltda.
Hemo Clin	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i>	Embrasvet - Empresa Brasileira Veterinaria Ltda
Plasmosil	<i>Babesia</i> spp.	Philips Couto Indústria Farmacêutica Ltda.
Babesin	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i>	Fagra - Farmagráfica S.A. Imp. & Exportação
Pirenthal	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i>	Minerthal Ltda.
**Ganatet	<i>Babesia</i> spp. <i>Anaplasma</i> spp.	Ciba Geigy Química S.A.
Ganaseg	Tripanossomose	Ciba Geigy Química S.A.
Diaseg	Tripanossomose Babesiose	Schering-Plough Veterinária
Nambiusol	Piroplasmose bovina e canina	Farmavet Produtos Veterinários Ltda.

*Todos os produtos têm como princípio ativo a droga diaceturato de dimenazene. A dosagem recomendada é 3,5 mg/kg por via intramuscular para equinos e bovinos.

**Apesar de nenhum dos fabricantes referir-se ao tratamento da tripanossomose pelo *Trypanosoma evansi*, o Dimenazene é efetivo na dosagem de 7,0 mg /kg.

***Ganatet®: Dimenazene em associação com Tetraciclina.

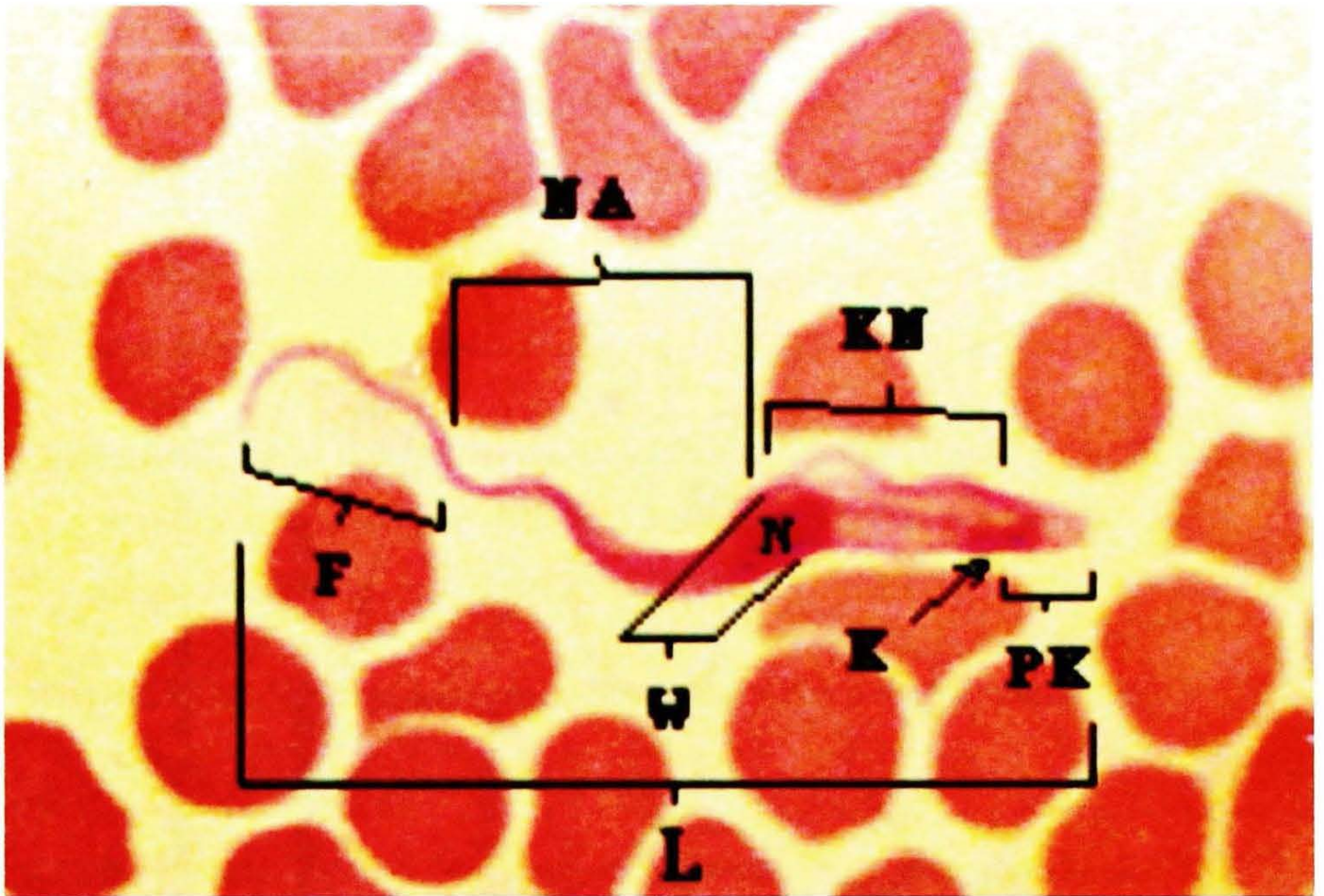


FIG. 1. Medidas dos tripanossomas. L: comprimento total (incluindo o flagelo livre); PK: distância do posterior final ao cinetoplasto; KN: do cinetoplasto ao meio do núcleo; PN: do posterior final ao meio do núcleo; NA: do meio do núcleo ao anterior final; F: comprimento do flagelo livre; K: cinetoplasto. Baseado em Hoare (1972). *Trypanosoma vivax*: forma tripomastigota em sangue de bovino (surto ocorrido no Pantanal do Poconé, 1995).

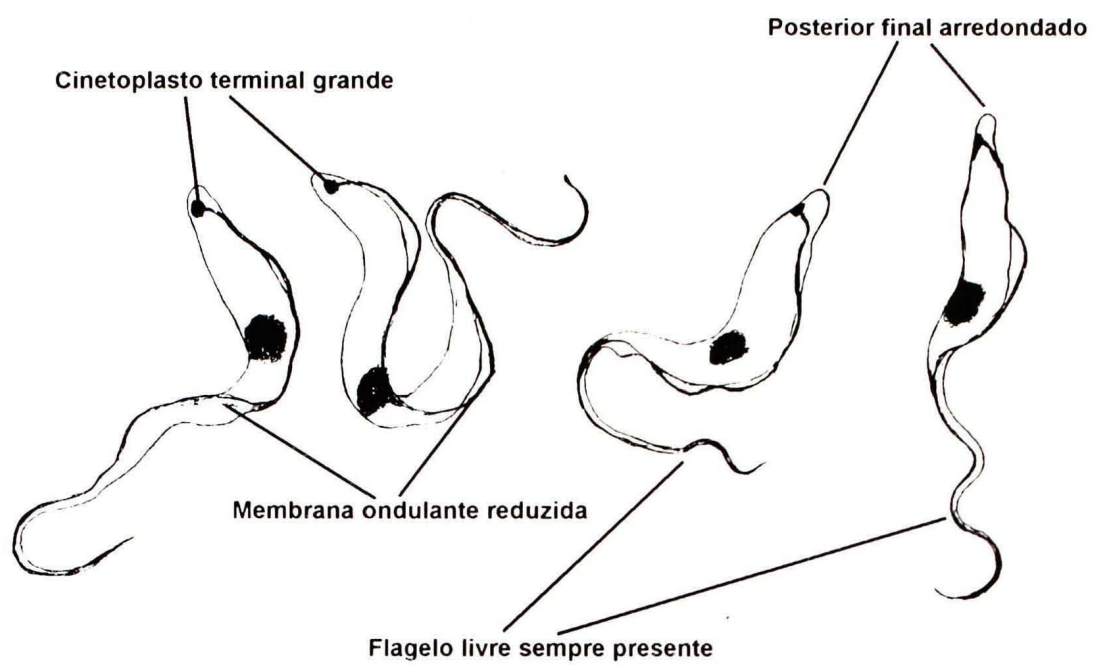


FIG. 2. *Trypanosoma vivax* encontrado no sangue de bovinos naturalmente infectados no Pantanal de Poconé, MT, Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOID, R.; HUNTER, G.; JONES, T.W.; ROSS, C.A.; SUTHERLAND, D.; LUCKINS, A.G. Trypanosomosis Research at the Centre for Tropical Veterinary Medicine (CTVM) 1970 to 1995. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburg, v.28, p.5-22, 1996.

BOYT, W.P. **A field guide for diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomiasis.** [S.l.]: FAO, 1986. 139p.

CLARKSON, M.I. Trypanosomiasis of domesticated animals of South America. **Transaction Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.70, p.125-126, 1976.

HOARE, C.A. **The trypanosomes of mamals.** Oxford: Blackwell, 1972. 749p.

ILRAD (Nairobi, Kenya). **Anaemia in trypanosomiasis haemorrhagic. *T. vivax* may provide a clue.** ILRAD Reports., v.2, n.4, 1984.

LEGER, M.; VIENNE, M. Epizootie a trypanosomes chez les bovines de la Guyane Française. **Bull. Soc. Path. Exot.**, v.12, p.258-266, 1919.

LEVINE, N.D. **Protozoan parasites of domestic animals and of man.** 2.ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1973. 406p.

- LOSOS, G.J. **Infectious tropical diseases of domestic animals**. Harlow Essex: Longman Scientific and Technical, 1986. 938p.
- LOSOS, G.J.; IKEDE, B.O. **Review of pathology of diseases in domestic and laboratory animals caused by *Trypanosoma congolense*, *T. vivax*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense***. Toronto: Uganda East African Trypanosomiasis Research Organization, 1972.
- PEREGRINE, A.S. Chemotherapy and delivery systems: haemoparasites. **Veterinary Parasitology**, v.54, p.223-248, 1994.
- PEREGRINE, A.S.; MAMMAN, M. Pharmacology of dimmenazene: a review. **Acta Tropica**, Basel, v.54, p.185-203, 1993.
- SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brasil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v.66, p.25-32, 1972.
- SILVA, R.A.M.S.; BARROS, A.T.M.; HERRERA, H.M. Trypanosomosis outbreaks due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil. A preliminary approach on risk factors. **Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop.**, v.4, p.315-319, 1995a.
- SILVA, R.A.M.S.; SILVA, J.A.da; SCHNEIDER, R.C.; FREITAS, J.de; MESQUITA, D.P.; MESQUITA, T.C.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R.; PEREIRA, M.E.B. Bovine Trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in the Northern subregion of Pantanal, Brazil. **Trypnews**, Caiene, v.2, n.4, p.1-2, 1995b.

SILVA, R.A.M.S.; SILVA, J.A.da; SCHNEIDER, R.C.; FREITAS, J.de; MESQUITA, D.; MESQUITA, T.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R.; PEREIRA, M.E.B. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.5, p.561-562, 1996.

WELLS, E.A.; RAMIREZ, L.E.; BETANCOURT, A. *Trypanosoma vivax* in Colombia: Interpretation of field results using the indirect fluorescent antibody test. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburg, v.14, n.3, p.141-150, 1982.

WHITELAW, D.D. Immunosuppression in bovine trypanosomiasis: Studies with louping-ill vaccine. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v.26, p.10-107, 1979.

IMUNIDADE CONTRA *Trypanosoma vivax*

Flábio Ribeiro Araújo¹

Cláudio Roberto Madruga²

INTRODUÇÃO

O *Trypanosoma vivax* é um hemoprotozoário de ruminantes do grupo dos Salivaria, presente na África, onde é transmitido ciclicamente por moscas do gênero *Glossina*, bem como nas Américas Central e do Sul e Ásia, onde a transmissão ocorre mecanicamente, através de moscas hematófagas, como as dos gêneros *Tabanus* e *Stomoxys*.

No Brasil, até recentemente, as descrições da presença do *T. vivax* estavam circunscritas à região Norte, sendo o primeiro relato em búfalos no Estado do Pará (Shaw & Lainson, 1972). Entretanto, recentemente, o *T. vivax* foi identificado na região pantaneira de Poconé, no Estado do Mato Grosso (Silva et al., 1995), sugerindo que este hemoprotozoário está expandindo a sua presença no território brasileiro.

O *T. vivax* é responsável por grandes perdas econômicas à bovinocultura em áreas tropicais, refletidas por perdas na produção de

¹ Méd.-Vet., M.Sc., Departamento de Medicina Veterinária, UNIDERP, Rua Alexandre Herculano, 1400, Campo Grande, MS.

² Méd.-Vet., Ph.D., CRMV-MS nº 0587, Embrapa Gado de Corte, Caixa Postal 154, CEP 79002-970 Campo Grande, MS.

carne e leite, infertilidade, retardo no crescimento e mortalidade dos animais.

A infecção por este hemoparasito é caracterizada por emagrecimento progressivo, anemia, edema de barbela, febre, anorexia, oftalmite, diarreia e abortos (Silva et al., 1995). Após a infecção aguda, os bovinos apresentam baixas parasitemias, permanecendo em um estado de portador assintomático da doença (Láu, 1988).

EVASÃO DA RESPOSTA IMUNE PELO *T. vivax*

Embora os tripanossomas estejam constantemente expostos ao sistema imune do hospedeiro, estes hemoparasitos desenvolvem mecanismos de evasão, por variação antigênica (Abbas et al., 1994).

Os antígenos do *T. vivax* podem ser classificados em estáveis (invariáveis) ou variáveis. Os antígenos estáveis são constituintes do parasito, como proteínas estruturais e enzimas, que podem ser isoladas da população dos hemoprotozoários desta espécie em qualquer fase da infecção. Os antígenos variáveis, por outro lado, estão localizados na superfície do tripanossoma e são responsáveis pelas variantes sorológicas destes microrganismos (VATs-variable antigen types). Esta cobertura antigênica de superfície é constituída por mais de 10^7 moléculas de uma única glicoproteína variável de superfície (GVS).

Experimentos demonstraram que quando um único *T. vivax* é multiplicado em cultura, cada clone expressa uma única GVS. Quando

o organismo infecta o bovino pela primeira vez, o sistema imune gera anticorpos contra este antígeno. Os anticorpos podem eliminar cerca de 90% da população original de tripanossomas. No entanto, uma parte destes hemoparasitos altera a constituição da GVS e a nova glicoproteína não é reconhecida pela resposta imune inicial. Esta mudança ocorre espontaneamente e não depende da resposta imune do hospedeiro. A mudança de uma GVS explica os piques de parasitemia e a periodicidade da febre, características da tripanossomose. O potencial do repertório das GVS não é conhecido, embora já tenha sido descrito que descendentes de um mesmo tripanossoma podem apresentar até 100 GVS distintas (Stites & Terr, 1991).

A multiplicidade de variantes antigênicas observadas durante estudos de campo em bovinos torna a vacinação uma solução pouco provável para a tripanossomose.

A maioria dos antígenos estáveis do *T. vivax* não está localizada na superfície do parasito e, portanto, não está exposta ao sistema imune do hospedeiro. No entanto, estes antígenos são importantes na imunopatologia da infecção e para utilização em diagnóstico sorológico (Vickerman et al., 1992).

RESPOSTA IMUNE CONTRA O *T. vivax*

Imunidade inata

A cobertura de glicoproteínas do *T. vivax* parece conferir a este hemoparasito resistência aos mecanismos de imunidade inata,

como ativação de complemento e opsonização para fagocitose por macrófagos. As formas metacíclicas na probóscida da *Glossina*, que não possuem GVS, suportam a exposição ao sangue ingerido pelo inseto durante sua alimentação e estudos feitos *in vitro* mostraram que soro de cobaio, rico em complemento, não os afeta, sugerindo que este estágio possui outro mecanismo para evitar a inserção do complexo de ataque à membrana (Tetley et al., 1981). Estudos realizados com GVS purificadas de *T. brucei* revelaram que estas glicoproteínas ativam complemento na ausência de resposta imune específica, porém os tripanossomas não são lisados (Mussoke & Barbet, 1977). Este tipo de ativação pode contribuir para a depleção de complemento observada em bovinos infectados por *T. vivax* (Rurangirwa, 1983).

A GVS parece atuar como uma cápsula antifagocítica eficiente, na ausência de imunidade específica, contra a VAT. Embora a interação específica das células fagocíticas com os tripanossomas não tenha sido investigada em detalhes, sabe-se que macrófagos peritoneais de espécies de hospedeiros susceptíveis não se ligam nem fagocitam as formas tripomastigotas (Mosser & Roberts, 1982).

Apesar da falta de fagocitose na ausência de imunidade específica, estudos mostraram que a eliminação de óxido nítrico por macrófagos poderia destruir tripanossomas no baço, fígado e medula óssea (Liew & Cox, 1991).

Resposta imune específica

A resposta imune específica às infecções por *Trypanosoma* é caracterizada por um aumento significativo da relação BOCD4/BOCD8, por ocasião do primeiro pique de parasitemia, e aumento no número total de células T, B e nulas até trinta dias pós-inoculação (Ellis et al., 1987).

A imunidade específica desempenha um papel fundamental no curso da infecção pelo *T. vivax*. Quando um bovino é infectado por um tripanossoma de um VAT em particular, uma resposta humoral forte e rápida se desenvolve, protegendo-o contra este VAT, mas não contra outros. A variação antigênica permite ao tripanossoma escapar destes mecanismos imunes, fazendo com que novas respostas tenham que ser montadas contra os sucessivos VATs.

Provavelmente todos os estágios cobertos com GVS são capazes de induzir uma imunidade VAT-específica em hospedeiros imunocompetentes. As glicoproteínas de superfície não só são as proteínas mais abundantes no tripanossoma, como também as mais imunogênicas.

◆ Resposta imune humoral

A resposta imune sistêmica contra *T. vivax* é mediada quase que inteiramente por anticorpos VAT-específicos. A resposta humoral típica em mamíferos, na qual a síntese inicial de IgM é substituída pela produção de IgG, é modificada em bovinos infectados por *T. vivax*, com uma produção de IgM aumentada e prolongada.

Em bovinos experimentalmente infectados com *T. vivax*, títulos crescentes de IgM aparecem após 10 dias de infecção, e

permanecem altos até os animais serem tratados (Luckins & Mehlitz, 1976). Os títulos de IgG1 e IgG2 usualmente variam pouco em bovinos infectados por *T. vivax*, embora aumentos da ordem de duas vezes tenham sido observados em infecções naturais (Luckins & Mehlitz, 1976). A IgM é mais efetiva do que a IgG na neutralização, aglutinação e lise dos tripanossomas *in vitro* e no estabelecimento de proteção *in vivo* (Mussoke et al., 1981). No entanto, foi constatado recentemente que a molécula de IgM ligada ao tripanossoma está envolvida no mecanismo de evasão. A explicação para esta observação é que a IgM limitaria a ligação da IgG, que seria de fato a imunoglobulina responsável pelo processo imune de eliminação do parasito (Garcia et al., 1997). Em bovinos, piques recorrentes de anticorpos contra o VAT infectante foram encontrados, porém não se sabe se estas respostas foram induzidas pela recrudescência deste VAT ou por outro, cujo antígeno variável de superfície possua epitopos em comum (Vos & Gardiner, 1990).

Parece provável que a macroglobulinemia persistente, encontrada em bovinos e humanos infectados por tripanossomas africanos, seja produto das respostas contra os sucessivos VATs, já que a adsorção dos soros de bovinos infectados com *T. brucei* com um painel de VATs removeu a maioria das IgM do soro (Mussoke et al., 1981). No entanto, existe uma constatação mais recente que, nas infecções por tripanossoma, há produção de IgM não específica a este protozoário pelas células B com marcador CD5, que aumentam consideravelmente 7 a 10 dias após a primeira parasitemia (Naessens & Williams, 1992).

◆ Resposta imune celular

Ao contrário das respostas humorais, a participação da resposta imune celular não está bem definida. Alguns resultados de experimento sugerem que esta tem um papel de pouca ou nenhuma importância na proteção contra tripanossomas salivários. Isto foi demonstrado em camundongos, nos quais a resposta imune contra *T. brucei* foi transferida através de soro imune ou linfócitos B, porém não por linfócitos T. Camundongos atímicos homozigotos, deficientes em linfócitos T maduros, porém capazes de montar uma resposta humoral com IgM, controlaram a parasitemia de *T. rhodesiense* melhor do que os animais heterozigotos, que montam ambas as respostas (Campbell et al., 1978). Entretanto, nas infecções dos bovinos com tripanossoma, foi verificada a proliferação de linfócitos T que poderiam participar no controle da infecção através da produção de linfocinas como IL-2, e atuaria em macrófagos, linfócitos B e linfócitos T. Esses últimos são capazes de produzir IFN- γ , uma linfocina importante na ativação dos macrófagos, que atua no controle da tripanossomose (ILRAD, 1991). Existem evidências circunstanciais que sugerem a participação de células T CD8 e células T com receptores $\gamma\delta$ na resistência ao *Trypanosoma*. Os bovinos da raça N'Dama, resistentes à tripanossomose, têm a população destas células aumentada consideravelmente durante a infecção por esse hemoprotozoário, ao contrário dos bovinos da raça Boran, que são susceptíveis (ILRAD, 1992).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A.K.; LITCHMAN, A.H.; POBER, J.S. Immunity to microbes.
In: ABBAS, A.K.; LITCHMAN, A.H.; POBER, J.S. **Cellular and molecular immunology**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1994. p.319-336.
- CAMPBELL, J.H.; ESSER, K.M.; PHILLIPS, S.M. *Trypanosoma rhodesiense* infection in congenitally atimic (nude) mice. **Infection & Immunity**, Washington, v. 20, p.714-720, 1978.
- ELLIS, J.A.; SCOTT, J.R.; MACHUGH, N.D.; GETTIMBY, G.; DAVIS, W.C. Peripheral blood leucocytes subpopulation dynamics during *Trypanosoma congolense* infection in Boran and N'Dama cattle: an analysis using monoclonal antibodies and flow cytometry. **Parasite Immunology**, Oxford, v.9, p.363-378, 1987.
- GARCIA, I.E.; LIMA, M.R.D.; MARINHO, C.R.F.; KIPNIS, T.L. Role of membrane bound IgM in *Trypanosoma cruzi* evasion from immune clearance. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.83, p.230-233, 1997.
- ILRAD (Nairobi, Kenya). The mechanism by wich cattle acquire immunity to trypanosomiasis. **ILRAD Reports**, Nairobi, v.9, n.2, p.1-4, Apr.1991. Baseado em relatório de D. Williams e E. Authié.

ILRAD (Nairobi, Kenya). Do T cells help animals develop immunity to trypanosomiasis? **ILRAD Reports**, Nairobi, v.10, n.2, p.1-2, Apr.1992.

LÁU, H.D. **Sintomas e tratamento da tripanossomíase (T. vivax) em búfalos**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1988, 13p. (Boletim de Pesquisa, 90).

LIEW, F.Y.; COX, F.E.G. Non-specific defence mechanism: the role of nitric oxide. **Parasitology Today**, Barking, v.7, p.17-21, 1991.

LUCKINS, A.G.; MEHLITZ, D. Immunoglobulin levels in cattle trypanosomiasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.70, p.479-480, 1976.

MOSSER, D.N.; ROBERTS, J.F. *Trypanosoma brucei*: recognition *in vitro* of two developmental forms by murine macrophages. **Experimental Parasitology**, New York, v.54, p.310, 1982.

MUSSOKE, A.J.; NANTULYA, V.M.; BARBET, A.F.; KIRONDE, F.; McGUIRE, T.C. Bovine immune response to African trypanosomes: specific antibodies to variable surface glycoproteins of *Trypanosoma brucei*. **Parasite Immunology**, Oxford, v.3, p.97-106, 1981.

MUSSOKE, A.J.; BARBET, A.F. Activation of complement by variant-specific surface antigen of *Trypanosoma brucei*. **Nature**, London, v.270, p.438-440, 1977.

NAESSENS, J.; WILLIAMS, D.J.L. Characterization and measurement of CD5⁺ B cells in normal and *Trypanosoma congolense* infected cattle. **European Journal of Immunology**, Florida, v.22, p.1713-1718, 1992.

RURANGIRWA, F.R.; MUSSOKE, A.J.; NANTULYA, V.M.; TABEL, H. Immunodepression in bovine trypanosomiasis: effects of acute and chronic *Trypanosoma congolense* and chronic *Trypanosoma vivax* infections on antibody response to *Brucella abortus* vaccine. **Parasite Immunology**, Oxford, v.5, p.207-276, 1983.

SILVA, R.A.M.S.; SCHNEIDER, R.C.; FREITAS, J.de; MESQUITA, D.P.; MESQUITA, T.C.; RAMIREZ, L.; D'AVILA, A.M.R.; PEREIRA, M.E.B. Bovine trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* in the Northern Subregion of Pantanal, Brazil. **Trypnews**, Caiene, v.2, n.4, p.1-2, 1995.

STITES, D.P.; TERR, A.I. Parasitic diseases. In: STITES, D.P.; TERR, A.I. **Basic and clinical immunology**. New York: Prentice-Hall Corporation, 1991. p.672-687.

SHAW, J.J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vixax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.66, p.25-32, 1972.

TETLEY, L.; VICKERMAN, K.; MOLOO, S.K. Absence of a surface coat from metacyclic *Trypanosoma vivax*: possible implication for vaccination against vivax tripanosomiasis. **Transactional Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.75, p.409-414, 1981.

VICKERMAN, K.; MYLER, P.J.; STUART, K.D. African Trypanosomiasis. In: WARREN, K.S. **Immunology and molecular biology of parasitic infections**. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1992. p.170-212.

VOS, G.J.; GARDINER, P.R. Parasite-specific antibody responses of ruminants infected with *Trypanosoma vivax*. **Parasitology**, London, v.100, p.93-100, 1990.

ISBN 85-297-0039-2



Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária e Ambiental



Embrapa

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte
Ministério da Agricultura e do Abastecimento***

*Rodovia BR 262, km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS
Telefone (067) 768 2064 Fax (067) 763 2700
e-mail: difusao@cnpqc.embrapa.br*