

AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO TRANSESTADIAL DE *Babesia caballi* em *Dermacentor nitens* DURANTE INFESTAÇÃO EXPERIMENTAL EM COELHOS

Tays Araujo de Camilo¹; Monique Ignácio Davel de Anchieta¹; Huarrisson Azevedo Santos² & Carlos Luiz Massard³

1. Bolsista PIBIC, Discente do Curso de Medicina Veterinária, 2. Professor do DESP/IV/UFRRJ; 3. Professor do DPA/IV/UFRRJ.

Palavras-chave: Hemoprotozoários; carrapatos; diagnóstico molecular, Babesiose equina

Introdução

Dentre os agentes etiológicos da Piroplasmose equina, encontra-se a espécie *Babesia caballi* (Nuttall; Strickland, 1912), que acomete também asininos, pôneis, muares e zebras. Embora a doença causada por este agente seja considerada mais branda em relação à provocada por *Theileira equi*, animais infectados na fase aguda da doença apresentam febre, icterícia, anemia, fraqueza, hemoglobínúria nos animais acometidos, e em alguns casos, o animal pode evoluir ao óbito (DE WAAL et al., 1992). Contudo, na maioria dos casos, o principal agravo à saúde dos animais se caracteriza pela queda do desempenho e rendimento do equino, o que na indústria equestre, é de extrema importância (De WAAL et al., 1992). Sua transmissão está relacionada a carrapatos do gênero *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Hyalomma* (FRIEDHOFF et al., 1990; De WAAL et al., 1992). Nas Américas, *D. nitens* é a principal espécie envolvida na transmissão (ROBY; ANTHONY, 1963). No Brasil, estudos demonstram a participação deste carrapato na infecção dos equinos no país (PFEIFER-BARBOSA et al. 1992). A transmissão de *B. caballi* por carrapatos vetores pode ocorrer de forma transovariana (NEITZ, 1956; ROBY; ANTHONY, 1963), transestadial (De WAAL et al., 1988) e intraestadial (SCOLE; MASSARO, 2015), sendo todos os estágios competentes na transmissão. Estudos apontam que a infecção por *B. caballi* em carrapatos pode permanecer por apenas uma geração, quando alimentados em hospedeiros não infectados (SCHWINT et al., 2008). Contudo, diferenças genéticas entre as cepas de *B. caballi* circulantes e entre os diferentes tipos de hospedeiros podem influenciar a capacidade de infecção deste protozoário nos diferentes estágios dos carrapatos vetores. O objetivo deste estudo foi avaliar a transmissão transestadial de *B. caballi* por *D. nitens* durante a fase de infestação experimental em coelhos.

Metodologia

Fêmeas parcialmente ingurgitadas de *D. nitens* foram obtidas de infestações de um equino da UFRRJ, sendo estes exemplares devidamente lavados, secos, pesados e acondicionadas em placas de petri em câmara climatizada (B.O.D.) até o início das posturas. A postura foi removida, pesada e armazenada em seringas de plástico na B.O.D., até o momento da eclosão. As larvas recém-emergidas foram utilizadas para infestação experimental em dois coelhos, selecionados do plantel da UFRRJ. Durante toda a infestação experimental (23 dias), exemplares de *D. nitens*, nas fases evolutivas de larvas, ninfas e adultos foram coletados e acondicionados em "pools". Alguns exemplares coletados foram mantidos em B.O.D., para análise posterior após a mudança de estágio. Além disso, uma amostra de 0,5 mL de sangue de cada coelho foi coletada por venopunção da veia marginal da orelha através de tubos a vácuo contendo anticoagulante (EDTA), antes do período experimental. Realizou-se a extração de DNA do material genômico das amostras de sangue e dos carrapatos coletados durante este período, através de kits comerciais (Kit Wizard Genomic DNA Purification, Promega® e DNA Easy Blood and Tissue, Qiagen®). As amostras de DNA foram, quantificadas em espectrofotômetro (Nanodrop®) e aliqüotadas. A detecção de *B. caballi* nas amostras de DNA dos carrapatos foi realizada através da PCR em tempo real (qPCR) conforme descrito por Bhoora et al. (2010). Amostras que apresentaram Cq abaixo de 40 ciclos foram consideradas positivas. O grau de infecção por *B. caballi* nos carrapatos foi determinado conforme o valor de Cq obtido da qPCR, sendo valores mais próximo de 40,0, um menor o grau de infecção. Todas as amostras foram feitas em duplicata, e as amostras positivas foram re-testadas. Foi realizada uma análise descritiva da frequência de positividade por *B. caballi* em *D. nitens* nos diferentes estágios evolutivos, assim como para os valores de Cq obtido das amostras positivos, através do programa BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007).

Resultados e Discussão

Foram observados exemplares dos três estágios de desenvolvimento do carrapato com a presença do DNA-alvo de *B. caballi*, através da qPCR, durante a infestação experimental. Do total de “pools” analisados, 27,3% (n=3/11) foram considerados positivos para o hemoprotozoário. A média dos valores de Cq das amostras positivas foi 32,72 ±2,62, sendo que o maior valor de Cq foi de 39,9 e o menor, 27,4, valor este bem abaixo do obtido da amostra controle (Cq=33,4). Este achado ratifica a ideia que os carrapatos da infestação experimental em um hospedeiro não típico (coelho) e não infectado podem multiplicar e desenvolver o parasita, com um elevado grau de infecção, mesmo não tendo uma fonte de alimentar contendo novas formas infectantes de *B. caballi*. Vale destacar que o menor valor de Cq (=maior grau de infecção) foi obtido de uma fêmea de *D. nitens*, o que salienta a possibilidade se perpetuar a infecção para a próxima geração de carrapatos, através da transmissão transovariana. É importante mencionar que os coelhos foram negativos a infecção. Holbrook et al. (1968) observaram pela primeira vez as formas de multiplicação do protozoário em amostras de hemolinfa e tecidos de *D. nitens* e sua transmissão transovariana em carrapatos coletados de equinos mantidos em áreas de surto. A capacidade infectante de *B. caballi* para as próximas gerações de carrapatos foi testada recentemente. Estudos demonstraram que somente a primeira geração de carrapatos se mantém infectante, quando alimentados em hospedeiros não específicos, como os bovinos (SCHWINT et al., 2008). Da mesma forma, os resultados deste estudo demonstram que houve transmissão transestadial de *B. caballi*, entre os carrapatos da espécie *D. nitens* mesmo alimentados em um hospedeiro não infectado e não específico para o carrapato, como o coelho.

Conclusão

Foi possível concluir que a transmissão transestadial de *B. caballi* ocorre de forma eficaz mesmo após manutenção de colônia em hospedeiro não infectado e não específico para o agente e para o carrapato, como demonstrado neste trabalho, utilizando coelhos.

Referências Bibliográficas

- AYRES, M. et al. BioEstat 5,0 - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas, Sociedade Civil Mamirauá, Tefé, 380p, 2007.
- DE WAAL, D.T. et al. Isolation of pure *Babesia equi* and *Babesia caballi* organisms in splenectomized horses from endemic areas in South Africa. Onderstepoort Journal Veterinary Research, v.55, p.33-353, 1988.
- DE WAAL, T. Equine piroplasmiasis: a review. British Veterinary Journal, v.148, n.1, p.6-14, 1992.
- FRIEDHOFF, K.T et al. Haemoparasites of equines: impact on international trade horses. Rev Scientif. Tech., 9: 1187-94. 1990.
- HOLBROOK, A.A. et al. Observations on the Development of '*Babesia caballi* (Nuttall) in the Tropical Horse Tick *Dermacentor nitens* (Neumann). Journal Protozoology, v.15, n.2, p.391-396, 1968.
- NEITZ, W.O. Classification, transmission and biology of piroplasms of domestic animals. Annals New York Academic Science, v.64, n.2, p.56-111, 1956.
- PFEIFER-BARBOSA, I.B. et al. Diagnosis of natural infection with *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910) in horses and *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) in Itaguaí, Rio de Janeiro, Brasil. Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, v.15, n.1, p.105-107, 1992.
- ROBY, T.O.; ANTHONY, D.W. Transmission of equine piroplasmiasis by *Dermacentor nitens* Neumann. Journal American Veterinary Medicine Association, v. 142, n. 7, p. 768-769, 1963.
- SCHWINT, O.N.; et al. Transmission of *Babesia caballi* by *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) Is Restricted to One Generation in the Absence of Alimentary Reinfection on a susceptible Equine Host. Journal of Medical Entomology, v.45, n.6, p.1152-11.