

# EPIDEMIOLOGIA DA BABESIOSE BOVINA NO ESTADO DE SÃO PAULO: I. ESTUDO EM REBANHOS PRODUTORES DE LEITE TIPO B DO MUNICÍPIO DE PINDAMONHANGABA, VALE DO PARAÍBA.

L. A. G. BARCI<sup>1</sup>, M. R. OLIVEIRA<sup>2</sup>, R. Z. MACHADO<sup>3</sup>, D. A. OLIVEIRA<sup>1</sup> & R. S. ARAÚJO FILHO<sup>1</sup>

(1) Instituto Biológico, Seção de Parasitoses - Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, Vila Clementino - São Paulo CEP 04014-002; (2) Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ-UNESP, campus Botucatu, Distrito de Rubião Jr - Botucatu SP CEP 18 618-000; (3) Departamento de Patologia Veterinária, FCAV-UNESP, campus Jaboticabal - Rod. Carlos Tonani km 5 s/nº, Jaboticabal, SP CEP 14.870-000

**SUMÁRIO:** Os autores determinam a frequência de ocorrência de anticorpos fluorescentes contra *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bovinos produtores de leite tipo B do município de Pindamonhangaba, São Paulo. Das 103 propriedades existentes na região foram visitadas 33 (32%) e em cada uma foram colhidas amostras de sangue de bezerras, novilhas e vacas. No total foram utilizadas 117 amostras de soros de fêmeas acima de 6 meses de idade, pertencentes às raças puras ou mestiças. A determinação da ocorrência de animais com anticorpos contra as espécies de babesias foi realizada por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI). A RIFI detectou 94% de anticorpos específicos para *Babesia bigemina* e 88% para *Babesia bovis*, sendo que reações positivas puderam ser detectadas nas várias diluições entre 1:40 e 1:2560. Os resultados obtidos sugerem que a região de Pindamonhangaba pode ser considerada de estabilidade enzoótica em relação às espécies estudadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** babesiose, *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, bovino de leite, reação de imunofluorescência indireta.

## INTRODUÇÃO

A babesiose bovina no Brasil é causada pelas espécies *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* e é transmitida pelo carrapato *Boophilus microplus*.

A doença em nosso meio é de maior relevância dado o prejuízo econômico que ela acarreta, traduzido pela baixa produção de leite e carne, grande morbidade, mortalidade e perdas indiretas representadas pelos custos com medidas de quarentena, combate ao vetor e utilização de drogas antiparasitárias (HORN, 1983).

A distribuição geográfica desta parasitose é limitada pela presença do vetor, que necessita de fatores ambientais favoráveis para completar o seu ciclo de vida. Condições climáticas, tropicais e subtropicais propiciam o desenvolvimento do carrapato e conferem à babesiose características de estabilidade enzoótica. Nos locais onde o clima limita o desenvolvimento do *B. microplus*, tornando deste modo a transmissão irregular, situações de instabilidade enzoótica se instalam, ocorrendo surtos de babesiose. Nestes casos é fundamental que se tenha total

conhecimento do caráter enzoótico da hemoparasitose na região, para que se possam estabelecer medidas profiláticas. A região enfocada neste estudo é carente deste tipo de informação. Os dados que se conhecem foram publicados por AMARAL & VALENTE (1971) e são decorrentes de notificações registradas durante o período de 1965/1967, os quais não traduzem a realidade atual daquela área.

A semelhança dos trabalhos desenvolvidos por MADRUGA *et alii*, (1983), ALVES (1987), PATARROYO SALCEDO *et alii*, (1987) e LINHARES *et alii*, (1992), o presente trabalho teve por objetivo estimar o número de animais com anticorpos contra as espécies de babesias que acometem bovinos, por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), e determinar a natureza enzoótica da babesiose bovina no rebanho leiteiro do município de Pindamonhangaba.

## MATERIAL E MÉTODOS

O município de Pindamonhangaba está localizado no vale do Paraíba, Estado de São Paulo, nas coordenadas

geográficas 22°58' de latitude sul e 47°27' de longitude oeste, distando 150km da cidade de São Paulo. Está situado a 560m de altitude o que proporciona à região um tipo de clima úmido e subtropical. Nos meses de março a agosto de 1990, período em que foram realizadas as colheitas das amostras utilizadas neste trabalho, as médias das temperaturas máximas e mínimas foram de 27,3 e 13,4°C, respectivamente, a umidade relativa registrou 82% e a precipitação pluvial 375,3mm. Analisando-se os dados meteorológicos de 1952 a 1991, constataram-se as seguintes médias: temperatura 20,8° C, umidade relativa 72,8% e total de chuva 1253,9mm.

O tamanho da amostra foi determinado estatisticamente por meio de fórmulas básicas para amostragem por proporção segundo STEEL & TORRIER (1960). As informações utilizadas para o cálculo foram fornecidas pela Divisão Regional Agrícola (DIRA) de Pindamonhangaba e pela Cooperativa de Laticínios Médio Vale do Paraíba. De acordo com os registros destes órgãos, 103 propriedades produziam leite tipo B na época do delineamento desta pesquisa.

Para este estudo foram utilizadas amostras de soros de 117 fêmeas bovinas, clinicamente saudáveis, com mais de 6 meses de idade (39 bezerras, 39 novilhas e 39 vacas) das raças: Holandesa, Jersey, Gir, e gado mestiço dessas raças, escolhidas aleatoriamente em 33 propriedades visitadas. Por ocasião das colheitas, em cada local visitado foi aplicado um questionário ao proprietário ou ao administrador da propriedade, com o objetivo de registrar informações a respeito do local, manejo e outros dados relativos aos animais.

Para o diagnóstico sorológico foi empregada a RIFI utilizando-se os mesmos critérios seguidos por ALVES (1987). As leituras foram realizadas em microscópio de epifluorescência, com aumento de 400 vezes. Foram considerados positivos os soros reagentes às diluições iguais ou maiores que 1:40.

O substrato antigênico utilizado nas reações sorológicas foi preparado de acordo com o protocolo adotado por MACHADO (1991). O antígeno constou de esfregaços de sangue parasitados por babesias, oriundas de 3 bezerros esplenectomizados e experimentalmente infectados por *Babesia bovis*, cepa Rio Grande do Sul (2 animais) e *B. bigemina*, cepa Jaboticabal (1 animal).

O conjugado foi preparado com anticorpos da classe IgG obtidos a partir de soro de coelhos hiperimunizados com IgG bovina e, a seguir, conjugados ao Isotiocianato de Fluoresceína (SIGMA F-7250 LOT 30H5017). A metodologia empregada foi semelhante àquela descrita por CAMARGO (1973).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 117 amostras de soros testadas através da RIFI, 110 (94%) apresentaram anticorpos contra *Babesia bigemina* e 103 (88%) foram positivas para *Babesia bovis*.

Estes dados aproximam-se dos índices registrados no Brasil, em bacias leiteiras, por ALVES (1987) em Garanhuns, Pernambuco, com relação à espécie *B. bigemina*, e PATARROYO SALCEDO et alii (1987) na Zona da Mata, Minas Gerais, para as duas espécies de *Babesia*. Assemelham-se, também, àqueles apontados por LINHARES et alii (1992) em estudos realizados em rebanhos de exploração mista da região de Goiânia, Goiás, relativamente às espécies *B. bigemina* e *B. bovis*. Contudo, são divergentes das percentagens consignadas por MADRUGA et alii (1983) na região de Cerrado do Estado de Mato Grosso do Sul, no que concerne às duas espécies de babesias e à taxa obtida por ALVES (1987) em Garanhuns, Pernambuco, para a espécie *B. bovis*. As discordâncias verificadas devem estar relacionadas às diferenças de raças bovinas, manejo e condições climáticas das regiões pesquisadas.

As altas percentagens de animais com anticorpos contra *Babesia*, verificadas na presente pesquisa, devem estar relacionadas ao clima da região, o qual é muito favorável ao desenvolvimento do carrapato *Boophilus microplus*, único vetor conhecido da babesiose bovina em nosso país.

Durante as colheitas, realizadas para a execução deste trabalho, pode ser verificada a alta infestação dos rebanhos (100%), apesar da utilização regular de produtos carrapaticidas em todas as propriedades visitadas (100%). Foram relatados casos clínicos de "tristeza parasitária" em 94% dos locais visitados. Deste total, 76% dos casos resultaram em morte dos animais. Todavia, essas ocorrências, apontadas como doença, não foram comprovadas por exames laboratoriais e, portanto, não existe certeza quanto à espécie envolvida.

Analisando-se os dados meteorológicos do local, pode-se constatar que as condições climáticas favorecem os estádios de desenvolvimento da fase não parasitária do *B. microplus*. As médias das temperaturas máxima e mínima associadas à umidade relativa do ar são favoráveis à oviposição que ocorre em torno de 26°C e acima de 70% de umidade relativa do ar.

Levando-se em conta que para o sucesso da transmissão das espécies de babesias o desenvolvimento do protozoário deve ocorrer em paralelo com a reprodução do vetor; que o sincronismo dos dois ciclos biológicos é necessário; que as condições climáticas do meio ambiente são vitais ao desenvolvimento da fase não parasitária do carrapato e, portanto, para a sobrevivência das espécies de babesias, supõe-se que, naquela região, o *B. microplus* e as espécies

de *Babesia* por ele veiculadas, estejam integradas, permitindo ao vetor transmitir os protozoários continuamente. As percentagens de animais com sorologia positiva, consignadas no presente trabalho, sugerem que este fato deva ocorrer no município de Pindamonhangaba.

De acordo com MAIONEY (1977), em regiões australianas consideradas de instabilidade enzoótica, o risco máximo de ocorrer surtos de babesiose está associado a taxas de inoculação entre 0,0005 e 0,005, onde apenas 12 a 75% dos bezerros se infectam antes dos 9 meses de idade. Levando-se em conta que os índices registrados neste trabalho estão acima de 75%, pode-se considerar que o município de Pindamonhangaba apresenta, em relação à *B. bigemina* e *B. bovis*, condições de estabilidade enzoótica (FRIEDHOFF & SMITH, 1981).

Observado-se as figuras 1 e 2, constata-se que em relação à *B. bigemina* e *B. bovis* os títulos variaram de 40 a 2560, respectivamente. No tocante à imunidade humoral, o nível de anticorpos suficiente para conferir proteção ao animal, nas diferentes raças, ainda não foi determinado com precisão. Neste caso, não se pode avaliar, com certeza, o significado dos títulos obtidos. Contudo, levando-se em conta que os soros provieram de bovinos sem sintomatologia clínica, presume-se que, no momento da colheita, os animais que apresentaram títulos à RIFI, já haviam tido contato com o(s) parasita(s) anteriormente. Supõe-se que aqueles que apresentavam títulos mais altos teriam sido desafiados mais recentemente e, portanto, estariam com seu sistema imunitário respondendo de forma mais ativa; e os animais que apresentaram títulos mais baixos poderiam não ter sofrido infestação por carrapatos parasitados, já há algum tempo. Entretanto, por não haver um acompanhamento sorológico dos bovinos, por meio de dosagens de anticorpos séricos do tipo IgG e IgM, não se pode constatar em que fase da infecção encontravam-se estes animais.

Os títulos de anticorpos observados mais freqüentemente, nas diferentes faixas etárias, possivelmente seriam suficientes para conferir imunidade aos animais, levando-os à condição de portadores. Neste particular, seriam necessários estudos mais acurados para avaliar com segurança se a afirmativa é verdadeira.

Com base nos resultados observados conclui-se que:

1. A freqüência de ocorrência de anticorpos específicos anti-*B. bigemina* e *B. bovis* foi, respectivamente, de 94% e 88%.
2. A babesiose bovina no município de Pindamonhangaba, em rebanhos produtores de leite tipo B, pode ser considerada como de natureza enzoótica em relação às espécies *B. bigemina* e *B. bovis*.
3. Com base nas percentagens de positividade apuradas e nas informações obtidas por meio do protocolo de

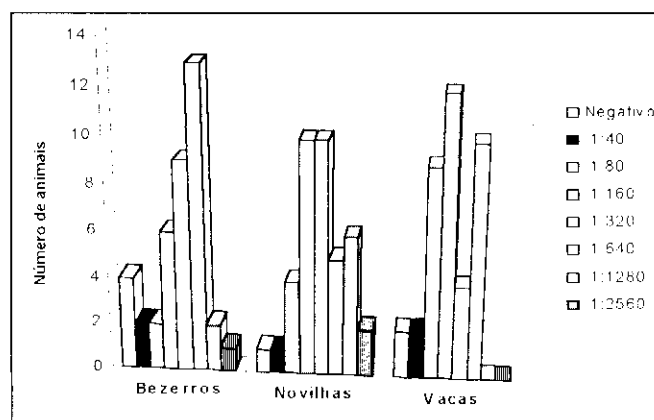


Fig. 1. Títulos de anticorpos anti-*Babesia bigemina* obtidos através da RIFI em soros de bovinos procedentes de Pindamonhangaba, SP.

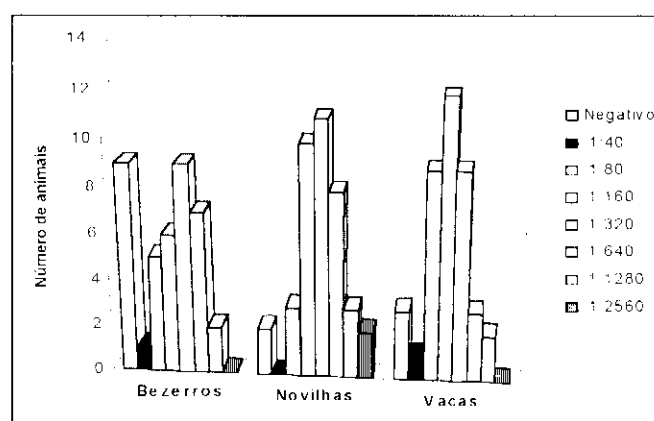


Fig. 2. Títulos de anticorpos anti-*Babesia bovis* obtidos através da RIFI em soros de bovinos procedentes de Pindamonhangaba, SP.

colheita supõe-se que ocorram, isoladamente em diferentes propriedades, casos clínicos da doença. Porém, não deverão ser constatados surtos endêmicos de babesiose na região.

4. Tendo em vista a situação epidemiológica do local, serão necessários cuidados especiais quanto à quarentena, premunicação ou vacinação (se possível) principalmente quando se tratar de animais de raças sensíveis e de alto valor zootécnico.

## SUMMARY

A serological survey was carried out in the Pindamonhangaba county, São Paulo State, to determine the occurrence of antibodies anti *Babesia* species in that area. The frequency of anti *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* antibodies was obtained in 117 serum samples from calves heifers and cows from 33 dairy farms examined by indirect immunofluorescent antibody test (IFAT). The results

showed that the antibodies are widely distributed throughout the region and frequency rates of 94% for *Babesia bigemina* and 88% for *Babesia bovis* were obtained which suggest a situation of enzootic stability.

KEY WORDS: babesiosis, epidemiology, *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, dairy Cattle, IFAT.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Isabel Aparecida Valli e Marcos Tadeu Christóforo, técnicos de laboratório do Departamento de Patologia Veterinária, FCAVJ/UNESP pela cooperação na execução deste experimento; à Seção de Climatologia do Instituto Agronômico pelo fornecimento dos dados meteorológicos.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, L.C. (1987) *Prevalência da babesiose bovina em gado leiteiro no município de Garanhuns, Estado de Pernambuco*. Dissertação de Mestrado, FMVZ/USP, 125pp.
- AMARAL, L.B.S. & VALENTE, E.A.T. (1971) Ocorrência de moléstias nos rebanhos bovinos do Estado de São Paulo, no triênio 1965/1967. V. Piroplasmose e anaplasmosse nas regiões de Campinas e vale do Paraíba, São Paulo. *Biológico*, (São Paulo) 37: 56-61.
- CAMARGO, M.E. (1973) *Introdução às técnicas de imunofluorescência*. São Paulo, Instituto de Medicina Tropical, (Apostila).
- FEIEDHOFF, K.T. & SMITH, R.D. (1981). Transmission of babesia by ticks. In: *Babesiosis*, RISTIC, M. & KRIEGER, J.P. (eds.). New York, Academic Press, p. 267-321.
- HORN, S.C. (1983). Prováveis prejuízos causados pelos carrapatos no Brasil. *Bol. Def. San. Anim.*, (nº especial).
- LINHARES, G.F.C.; MASSARD, C.L.; ARAUJO, J.L. DE B. & ALVES, L.C. (1992). Levantamento sorológico para *Babesia bigemina* (Smith e Kilborne, 1893) e *Babesia bovis* (Babés, 1888) em bovinos na Região Centro-Oeste do Brasil. *Arq. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro* 15(1):85-9.
- MACHADO, R.Z. (1991). *Estudo de imunidade celular e humoral na babesiose bovina*. Tese de Livre Docência, FCAVJ/UNESP, 150pp.
- MADRUGA, C.R.; AYCARD, E.; PUTT, N. (1983). Epidemiologia da anaplasmosse e babesiose em bovinos da região do cerrado do Estado de Mato Grosso do Sul: I. Prevalência. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* 35: 631-40.
- MAHONEY, D.F. (1977). Babesia of domestic animals. In: *Parasitic protozoa*. J.P. Kreier (ed.). New York, Academic Press, v4, p.1-52.
- PATARROYO SALCEDO, J.H.; SANTOS, J.L.; RIBEIRO, M.F.B.; FARIA, J.E. (1987). Epidemiologia das babesioses bovinas no Estado de Minas Gerais I. Prevalência de anticorpos fluorescentes na Zona da Mata - MG. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 39: 423-9.
- STEEL, R.C.D. & TORRIE, J.H. (1960). *Principles and procedures of statistics*. New York, MacGraw Hill, 481pp.

(Received 26 August 1994, Accepted 12 December 1994)