

LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE *BABESIA BOVIS* E *BABESIA BIGEMINA* NO ESTADO DA BAHIA PELA IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA E TESTE DE CONGLUTINAÇÃO RÁPIDA.

E. R. ARAÚJO¹, C. R. MADRUGA², M. A. O. ALMEIDA³, C. R. B. LEAL⁴ & M. MIGUTTA²

(1) Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Rua Alexandre Herculano, 1400, Campo Grande, MS - CEP: 79037-280, FAX: (067) 726-3754; (2) CNPGC/EMBRAPA, BR 262, km 4, Caixa Postal: 154, Campo Grande - MS - CEP: 79002-970; (3) Escola de Medicina Veterinária da UFBA, Av. Ademar de Barros, 500, Salvador, Bahia; (4) Bolsista de Aperfeiçoamento Científico do CNPq

SUMÁRIO: Um levantamento sorológico para *B. bovis* e *B. bigemina* foi realizado em bovinos de raças européias (*Bos taurus*) e seus cruzamentos, nas microrregiões de Feira de Santana, Jequié, Ilhéus-Itabuna e Vitória da Conquista, Estado da Bahia, mediante as técnicas de imunofluorescência indireta (IFI) e do teste de conglutinação rápida (TCR). Nas quatro microrregiões, as médias dos percentuais de bovinos com sorologia positiva para *B. bovis* foram de 97,2 e 92,7%, e de 99,0 e 95,0% para *B. bigemina* respectivamente pela IFI e TCR. Estes resultados permitem caracterizar as quatro microrregiões estudadas como sendo de estabilidade enzoótica para babesiose. Em relação aos testes sorológicos empregados houve uma correlação altamente significativa entre os resultados apresentados neste estudo pela IFI e o TCR, na detecção de anticorpos para ambos os parasitos.

PALAVRAS-CHAVE: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, bovino, imunofluorescência indireta, teste de conglutinação rápida, sorologia, epidemiologia.

INTRODUÇÃO

A babesiose constitui um dos principais fatores limitantes para o melhoramento da produtividade da bovinocultura em áreas tropicais e subtropicais do mundo (BÖSE *et alii*, 1995). No Brasil, esta doença é causada pelos hemoprotozoários *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, sendo o carrapato *Haemaphysalis microplax* o único hospedeiro intermediário identificado.

Os estudos epidemiológicos realizados no Brasil indicam que grande parte do território nacional apresenta características de estabilidade enzoótica para babesiose (SALCEDO *et alii*, 1987; LICHARI *et alii*, 1992; MADRUGA *et alii*, 1992; DALAGNOL *et alii*, 1995). No entanto, foram detectadas algumas situações de instabilidade enzoótica, devido a condições climáticas desfavoráveis ao desenvolvimento do carrapato ou ao seu controle intensivo (MADRUGA *et alii*, 1993; BARCI *et alii*, 1994; ARTHES *et alii*, 1995; VIDOTTO *et alii*, 1995).

Na Bahia, a ocorrência de casos clínicos de babesiose, aliado à presença do hospedeiro intermediário de *B. bovis* e *B. bigemina* (ALMEIDA *et alii*, 1994), indicam a existência destes hemoparasitos no Estado. Apesar disto, ainda não foram realizados levantamentos para determinar a prevalência de bovinos com sorologia positiva para estas espécies.

A realização de estudos epidemiológicos depende de provas sorológicas. Nas últimas décadas tem sido desenvolvidas diversas provas sorológicas, sendo a mais revisto por WRIGHT *et alii*, 1996. Neste contexto, este estudo foi realizado para avaliar a frequência de bovinos sorologicamente positivos para *B. bovis* e *B. bigemina* em quatro microrregiões do Estado da Bahia, bem como para comparar o desempenho do teste de imunofluorescência indireta, que provavelmente é a prova sorológica mais utilizada no diagnóstico de estes hemoparasitos, com o teste de conglutinação rápida, que é uma prova simples e de rápida execução, na detecção de anticorpos contra *Babesia*.

MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento sorológico para determinar a prevalência de bovinos soro-reagentes para *B. bovis* e *B. bigemina* foi realizado nas microrregiões de Feira de Santana, Jequiê, Ilhéus-Itabuna e Vitória da Conquista, Estado da Bahia, que possuem uma área de 70.117 km², com um rebanho bovino de 2.595.284 animais, correspondendo a 22,0% do efetivo de bovinos do Estado, sendo que deste total, 388.095 são vacas ordenhadas, com produção anual de 198.078.000 litros de leite (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 1991). Nas quatro microrregiões foram visitados 12 municípios e 17 propriedades, cujo clima variou de úmido a semi-árido.

O tamanho da amostra de soros foi determinado através da metodologia do CENTRO PAN-AMERICANO DE ZOONÓSES (1973). Baseado em uma prevalência estimada de bovinos sorologicamente positivos para *B. bovis* e *B. bigemina* de 90,0%, com grau de confiança de 95,0% e uma margem de erro de 6,0%, estabeleceu-se uma amostragem de 124 soros por microrregião.

Foram incluídos neste estudo bovinos de raças européas em seus cruzamentos, com idade acima de um ano, criados em sistema semi-intensivo. Na produção dos antígenos para as provas sorológicas, realizada no Laboratório de Hemoparasitoses do CNPGC/EMBRAPA, utilizaram-se suspensões de hemácias infectadas com isolados puros de *B. bovis* ou *B. bigemina*, obtidas a partir de bezerros esplenectomizados e infestados com larvas ou metalarvas de *B. microplus*, respectivamente (KESSLER *et al.*, 1987).

A produção do antígeno e a execução do TCR foram descritas previamente (MADRUGA *et al.*, 1995). Resumidamente, utilizou-se sangue de bezerros com parasitemias acima de 30,0%, que foi submetido a etapas sucessivas de lavagem em PBS pH 7,2 por centrifugação, para remoção da camada de leucócitos e do plasma. Posteriormente, o material obtido foi sonificado e centrifugado e o corante "fast green" adicionado ao sobrenadante. Na execução da prova, empregaram-se 15 µl do soro teste, 15 µl do antígeno e 30 µl do Fator Sérico Bovino (FSB). Os resultados foram obtidos após cinco minutos de reação entre os componentes da prova.

A produção do antígeno e a execução da IFI obedeceram as metodologias descritas por MADRUGA *et al.* (1986). Segundo a padronização do teste, a anti-IgG total de bovino conjugada com isotiocianato de fluoresceína (SIGMA) foi diluída a 1:80 e os soros teste a 1:80 e 1:160.

As comparações entre as médias dos percentuais de bovinos com sorologia positiva para *Babesia spp.* entre as

microrregiões, entre as taxas obtidas na IFI e TCR em uma mesma microrregião e entre as frequências relativas de animais soro-reagentes para *B. bovis* em relação a *B. bigemina* foram feitas por análise de variância (ANOVA), com grau de confiança de 95,0%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram constatadas médias das taxas de bovinos com sorologia positiva para *B. bovis* e *B. bigemina* superiores a 91,0% (Tabelas 1 e 2), não sendo constatadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre as médias das quatro microrregiões incluídas no estudo. Nas 17 propriedades visitadas, verificou-se frequências de bovinos soro-reagentes para *B. bovis* entre 85,7 e 100% pela IFI e entre 78,6 e 100% pelo TCR. Em relação a *B. bigemina*, as taxas situaram-se entre 90,0 e 100% pela IFI e entre 85,7 e 100% pelo TCR.

A distribuição das taxas de bovinos sorologicamente positivos entre as propriedades está demonstrada nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 1 - Frequências de bovinos sorologicamente positivos para *B. bovis* em 12 municípios do Estado da Bahia

Microrregião	Município	Nº animais	Nº de soros positivos		% de soros positivos	
			IFI	TCR	IFI	TCR
F.de Santana	F.de Santana	59	58	58	98,3	98,3
	Irará	35	34	30	97,1	85,7
	Ipecaetá	30	30	28	100	93,3
Sub-total		124	122	116		
Médias					98,4	95,5
Jequié	Jequié	36	36	36	100	100
	Cravolândia	60	57	55	95,0	91,7
	Santa Inês	28	25	22	89,3	78,6
Sub-total		124	118	113		
Médias					95,2	91,1
Ilhéus-Itabuna	Itabuna	28	25	25	89,3	89,3
	Floresta Azul	39	39	38	100	97,4
	Pau Brasil	57	57	51	100	89,5
Sub-total		124	121	114		
Médias					97,6	92,7
V.da Conquista	V.da Conquista	54	53	52	98,1	96,3
	Ibicui	33	33	33	100	100
	Iguai	37	35	32	94,6	86,5
Sub-total		124	121	117		
Médias					97,6	94,3
Total		496	482	460		
Médias					97,2	92,7

Tabela 2 - Frequências de bovinos sorologicamente positivos para *B. bigemina* em 12 municípios do Estado da Bahia

Microrregião	Município	Nº animais	Nº de soros positivos		% de soros positivos	
			IFI	TCR	IFI	TCR
E. de Santana	E. de Santana	59	59	58	100	98,3
	Itararé	35	35	30	100	85,7
	Ipecaetê	30	27	26	90,0	86,7
Sub-total		124	121	114		
Médias					97,6	91,9
Jequié	Jequié	36	36	35	100	97,2
	Cravolândia	60	59	59	98,3	98,3
	Santa Inês	28	27	27	96,4	96,4
Sub-total		124	122	121		
Médias					98,4	97,6
Itapecuru	Itapecuru	28	28	27	100	96,4
	Floresta Azul	39	39	34	100	87,2
	Pau Brasil	57	57	53	100	93,0
Sub-total		124	124	114		
Médias					100	91,9
V. da Conquista	V. da Conquista	54	54	54	100	100
	Ibicui	33	33	33	100	100
	Iguai	37	37	35	100	94,6
Sub-total		124	124	114		
Médias					100	98,4
Total		496	491	471		
Médias					99,0	95,0

As altas prevalências de bovinos sorologicamente positivos para *Babesia spp.*, detectadas neste levantamento, permitem caracterizar as quatro microrregiões estudadas como sendo de estabilidade enzoótica para babesiose e assemelham-se aos achados de MADRUGA *et alii* (1992), LINHARES *et alii* (1992) e DALAGNOL *et alii* (1995). Estes dados sugerem que o nível de infestação dos bezerros pelo carrapato *B. microplus* nestas microrregiões é suficiente para que estes se infectem com *B. bovis* e *B. bigemina* desde os primeiros meses de vida, adquirindo imunidade ativa antes do desaparecimento dos títulos de anticorpos colostrais, razão pela qual, não são necessárias medidas de imunização contra estes agentes.

Tabela 3 - Distribuição das taxas de bovinos sorologicamente positivos para *B. bovis* em 17 propriedades do Estado da Bahia.

Classe de prevalência de bovinos soro-reagentes (%)	Nº de propriedades		% de propriedades	
	IFI	TCR	IFI	TCR
70 — 80	0	2	0	11,8
80 — 90	3	5	17,6	29,4
90 — 100	14	10	82,4	58,8

Tabela 4 - Distribuição das taxas de bovinos sorologicamente positivos para *B. bigemina* em 17 propriedades do Estado da Bahia

Classe de prevalência de bovinos soro-reagentes (%)	Nº de propriedades		% de propriedades	
	IFI	TCR	IFI	TCR
80 — 90	1	4	5,9	23,5
90 — 100	16	13	94,1	76,5

As taxas de bovinos soro-reagentes para *Babesia spp.* no Estado da Bahia foram superiores às encontradas nos levantamentos realizados por MADRUGA *et alii* (1993), BARCEL *et alii* (1994) e VIDOTTO *et alii* (1995), nos quais foram caracterizadas situações de instabilidade enzoótica para babesiose bovina. Em relação ao levantamento realizado em Paraíba, o clima semi-árido parece ser o fator responsável pelas baixas frequências de bovinos soro-reagentes para *B. bovis* e *B. bigemina* detectadas na região do Cariri. As regiões mais próximas ao litoral deste Estado, onde a umidade e a precipitação pluviométrica são adequadas ao desenvolvimento do *B. microplus*, são caracterizadas por estabilidade endêmica para a babesiose (MADRUGA *et alii*, 1993).

As prevalências encontradas no levantamento sorológico para *Babesia spp.* no Estado da Bahia também foram superiores às encontradas por BARCEL *et alii* (1994), no Estado de São Paulo e às de VIDOTTO *et alii* (1995), em Londrina, Paraná. Apesar do clima provavelmente ser favorável ao desenvolvimento do carrapato *B. microplus* nestas regiões, as baixas taxas de animais soro-reagentes podem ocorrer devido à predominância bovina de raças européias, criados intensivamente, nos quais as altas infestações pelo carrapato demandam esquemas de manejo acaricidas frequentes, o que resultaria no estabelecimento de uma situação de instabilidade enzoótica devido às baixas taxas de transmissão de *Babesia spp.*

As diferenças em relação às médias das prevalências de bovinos sorologicamente positivos para *B. bigemina* e *B. bovis* não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$). Estes dados indicam que as taxas de transmissão destes hemoparasitos pelo *B. microplus* foram semelhantes nas microrregiões incluídas neste estudo.

As diferenças entre as médias das taxas de bovinos com sorologia positiva obtidas pela IFI e TCR, em uma mesma microrregião, também não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$), indicando que as duas provas sorológicas apresentaram desempenho similar na detecção de anticorpos para *B. bovis* e *B. bigemina* neste levantamento. Dados semelhantes foram relatados por MADRUGA *et alii* (1993) que trabalhando com soros de bovinos de sete Estados brasileiros, encontraram correlações entre os resultados apresentados pelas referidas provas sorológicas na detecção

de anticorpos contra *B. bovis* e *B. bigemina* de 86,2 e 95,6%, respectivamente. Em ambos os estudos, a alta correlação entre os resultados apresentados pelos dois testes possibilitou uma clara definição dos perfis epidemiológicos de enzootia, estabelecidos por MAHONEY & ROSS (1972), para a babesiose bovina.

SUMMARY

A serologic survey to determine prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* was conducted with dairy cattle (*Bos taurus*) and its cross-breed in the regions of Feira de Santana, Jequiê, Ilhéus-Itabuna and Vitória da Conquista, State of Bahia, by means of indirect fluorescent antibody test (IFAT) and rapid agglutination test (RCT). In the four regions studied, the average of positive sera for *B. bovis* were 97,2% and 92,7%, while 99,0% and 95,0% were positive to *B. bigemina*, respectively by IFAT and RCT. Data showed that all regions were characterized by enzootic stability to babesiosis. The IFAT and RCT showed a significant agreement in detecting antibodies to both hemoparasites.

KEY WORDS: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, bovine, indirect fluorescent antibody test, rapid agglutination test, serology, epidemiology

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. A. O.; ARAÚJO, F. R.; CARVALHO, E. L. L.; SANTARÉM, V. A.; LEAL, C. R. B. & JULIANO, F. S. (1994). Fase de vida livre do *Boophilus microplus* no município de Salvador, Bahia. Dados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23, 1994, Olinda, PE. *Anais*. Olinda, PE: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 672 p., p.246.
- ARTILES, J.; ALVES-BRANCO, F. P. J.; MARTINS, J. R.; CORREA, L. B. & SAPPER, M.F.M. (1995). Prevalência de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* no município de Bagé, RS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 4 (2): 79.
- BARCI, L. A. G.; OLIVEIRA, M. R.; MACHADO, R. Z.; OLIVEIRA, D. A. & ARAÚJO-FILHO, R. S. (1994). 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. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 3(2): 79-82.
- BÖSE, R.; JORGENSEN, W. K.; DALGLIESH, R. J.; FRIEDHOFF, K. T. & de VOS, A. J. (1995). Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Veterinary Parasitology*, 57: 67-74.
- CENTRO PAN-AMERICANO DE ZOONOSES, Ramos Mejia. *Procedimientos para Estudios de Prevalencia por Muestreo*. Ramos Mejia, Buenos Aires, 1979, 35 p. (Nota Técnica 18, Rev. 1).
- DAIAGNOI, C. A.; MARTINS, E. & MADRUGA, C. R. (1995). Prevalência de anticorpos contra *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em bovinos de corte na região de clima Cfb. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 4 (2): 220.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. (1991). *Pesquisa da Pecuária Municipal*. Bahia: IBGE, 58 p.
- KESSLER, R. H.; MADRUGA, C. R.; JESUS, E. F. & SEMPREBOM, D. V. (1987). Isolamento de cepas puras de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em área enzootica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 22 (7): 747-752.
- LINHARES, G. E. C.; MASSARD, C. L.; ARAÚJO, J. L. B. & ALVES, L. C. (1992). Levantamento sorológico para *Babesia bigemina* (SMITH & KILBORNE, 1893) e *Babesia bovis* (BABES, 1888) em bovinos da região Centro-Oeste do Brasil. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, 15 (1): 85-91.
- MADRUGA, C. R.; BRAGA, M. M.; LIMA, L. A. F.; MATOS, D. G.; MORAES, J. L. C.; OLIVEIRA, D. B. & MASSARD, C. L. (1992). Prevalência de anticorpos contra *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos do Estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 22, 1992, Curitiba. *Resumos*. Curitiba: SPMV, Resumo nº 285.
- MADRUGA, C. R.; HONER, M. R.; ANDREOTTI, R.; ARAÚJO, F. R. & SANTARÉM, V. (1993). Simulação e sorologia no mapeamento da instabilidade enzootica das babesioses: um estudo nas regiões do Boqueirão e Cariri, Estado da Paraíba. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 8, 1993, Londrina, PR. *Anais*. Londrina, PR: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Trabalho 19.
- MADRUGA, C. R.; KESSLER, R. H.; JESUS, E. F. & SETTE, A. J. (1986). *Imunofluorescência indireta para diagnóstico sorológico de Babesia bovis e Babesia bigemina: produção de antígeno com cepas isoladas no Estado de Mato Grosso do Sul e avaliação preliminar do teste*. Campo Grande: EMBRAPA-CNPq, 6p. (Pesquisa em Andamento, 32).
- MADRUGA, C. R.; KESSLER, R. H.; SCHENK, M. A. M.; HONER, M. R. & MIGUITA, M. (1995). Análise de testes de agglutinação rápida para detecção de anticorpos contra *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 47(5): 649-657.

- MAHONEY, D. F. & ROSS, D. R. (1972). Epidemiological factors in the control of bovine babesiosis. *Australian Veterinary Journal*, 48: 292-298.
- SALCEDO, J. H. P.; RIBEIRO, M. F. B.; SANTOS, J. L. & FARIA, J. E. (1987). Epidemiologia das babesioses no Estado de Minas Gerais. I. Prevalência de anticorpos fluorescentes na Zona da Mata-MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 39(3): 423-429.
- VIDOTTO, O.; YAMAMURA, M. H.; ANDRADE, G. M.; BARBOSA, C. S.; FREIRE, R. L. & VIDOTTO, M. C. (1995). Ocorrência de *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale* em rebanhos de bovinos leiteiros da região de Londrina, PR. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 4(2): 184.
- WOODFORD, J. D.; JONES, T. W.; RAE, P. F.; BOLD, R. & BELL-SAKYL, L. (1990). Seroepidemiological studies of bovine babesiosis on Pemba Island, Tanzania. *Veterinary Parasitology*, 37 (3-4): 175-184.
- WRIGHT, I. G. (1990). Immunodiagnosis and immunoprophylaxis against the hemoparasites *Babesia sp* and *Anaplasma sp* in domestic animals. *Revue Science and Technologie*, 9: 345-356.

(Received 28 May 1996. Accepted 20 November 1996)