

## OCORRÊNCIA DE BABESIOSE CANINA NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA, MINAS GERAIS

Vanessa Martins Fayad Milken  
Dagmar Diniz Cabral  
Joely Ferreira Figueiredo  
Carmem Lúcia Gonçalves

MILKEN<sup>1</sup>, V.M.F.; CABRAL<sup>2</sup>, D.D.; FIGUEIREDO<sup>3</sup>, J.F.; GONÇALVES<sup>3</sup>, C.L. Ocorrência de babesiose canina no município de Uberlândia, Minas Gerais. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 7(1): p. 19-22, 2004.

**RESUMO:** *Babesia canis* é um protozoário intraeritrocítico transmitido pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* que acomete principalmente cães domésticos e silvestres, causando manifestações clínicas como anorexia, piroxia, hemoglobinúria, esplenomegalia, hemoglobinemias, anemia grave, podendo o animal recuperar-se lentamente ou morrer. O objetivo desta pesquisa foi determinar a ocorrência da doença em Uberlândia - MG e comparar os métodos de esfregaços sanguíneos de ponta de orelha e Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) no diagnóstico desta enfermidade. Para realização deste trabalho, foram colhidos aleatoriamente soros de 143 cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia para exame de RIFI enquanto que 772 esfregaços sanguíneos de ponta de orelha foram feitos e corados pelo Giemsa para a pesquisa de hemoparasito. Após a padronização da RIFI, considerou-se positivo soros com diluição igual ou superior a 1:20 e como negativos soros com diluição inferior a 1:20. Dos soros testados, através de RIFI, 51,74% estavam positivos e 48,26% negativos. Dos esfregaços sanguíneos 2,72% eram positivos para babesiose, 87,83% negativos e 9,45% positivos para outros hemoparasitos. Através do teste Qui-quadrado observou-se diferença significativa, em nível de significância 5%, entre os métodos comparados.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Babesia canis*, babesiose, cão, esfregaço sanguíneo, Reação de Imunofluorescência Indireta

### INCIDENCE OF CANINE BABESIOSIS IN UBERLÂNDIA, MINAS GERAIS

MILKEN, V.M.F.; CABRAL, D.D.; FIGUEIREDO, J.F.; GONÇALVES, C.L. Incidence of canine babesiosis in Uberlândia, Minas Gerais. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 7(1): p. 19-22, 2004.

**ABSTRACT:** *Babesia canis* is an intra-erythrocyte protozoan transmitted by the tick *Rhipicephalus sanguineus* that infects especially domestic and wild canids. The most common clinical manifestations include anorexia, pyrexia, hemoglobinuria, splenomegaly, hemoglobinemia, and severe anemia, leading to mortality or even to slow recuperation. The aim of this study was to determine the prevalence of this disease in Uberlândia, MG, and to compare the blood smears from the tip of the ear exam and the indirect immunofluorescence (IFI) test as diagnostic methods used for this disease. Thus, sera from 143 dogs attended at the Veterinary Hospital of the Federal University of Uberlândia were collected to detect IgG anti-*Babesia canis* by IFI test, while 772 blood smears from the tip of the ear were performed and stained by Giemsa to search the intra-erythrocyte parasite. Sera with titer higher than 1:20 were considered as positive for the IFI test. For this test 51,74% were found positive and 48,26% negative. From the blood smears, 2,72% were *Babesia*-positive, 97,83% were *Babesia*-negative and 9,45% were positive to other erythrocyte parasites. By using the chi-square test, there was a significant difference ( $p < 0,05$ ) between the two studied diagnostic methods.

**KEY-WORDS:** *Babesia canis*, babesiosis, blood smears, canine, indirect immunofluorescence

### INCIDENCIA DE BABESIOSIS CANINA EN EL MUNICIPIO DE UBERLÂNDIA, MINAS GERAIS

MILKEN, V.M.F.; CABRAL, D.D.; FIGUEIREDO, J.F.; GONÇALVES, C.L. Incidencia de babesiosis canina en el municipio de Uberlândia, Minas Gerais. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 7(1): p. 19-22, 2004.

**RESUMEN:** *Babesia canis* es un protozoario intraeritrocítico transmitido por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* que ataca principalmente cánidos domésticos y silvestres causando manifestaciones clínicas como anorexia, piroxia, hemoglobinuria, esplenomegalia, hemoglobinemias, anemia grave, lo que puede llevar a la muerte o a una lenta recuperación. El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de la enfermedad en Uberlândia - MG y comparar los métodos de rición sanguínea de punta de oreja y el de Inmunofluorescencia Indirecta (RIFI) en el diagnóstico de esta enfermedad. Para la realización de este trabajo fueron recolectados al azar sueros de 143 canes, atendidos en el Hospital Veterinario de la

<sup>1</sup> Mestre em ciências veterinárias - clínica e cirurgia na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia Av. Ana Godoy de Sousa 764. B. Sta Mônica. Uberlândia-MG, Brasil. 38408-290. vanessa.fayad@bol.com.br.

<sup>2</sup> Professora Adjunto Parasitologia, Departamento de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia

<sup>3</sup> Médica Veterinária

Universidad de Uberlândia, para el examen de IFI. Mientras que 772 fricciones sanguíneas de punta de oreja fueron hechas y errojadas por el Giemsa para la pesquisa de hemoparásito. Después de la padronización de la RIFI, se consideró positivo sueros con dilución superior a 1:20 y RIFI presentaron el 51,74% de positividad y el 48,26 % de negatividad. De las fricciones sanguíneas el 2,72% eran positivas para babesiose, el 87,83% negativas y el 9,45% de positivos para otros hemoparásitos. A través del test Qui-cuadrado se observó una diferencia significativa al nivel de significancia del 5% entre los métodos comparados.

**PALABRAS-CLAVES:** *Babesia canis*, Babesiose, can, fricción sanguínea, Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta

### Introdução

A população canina tem aumentado nos últimos anos e com ela a população de carrapatos, trazendo uma maior ocorrência das hemoparasitoses como a babesiose, a ehrlichiose, entre outras. A partir de então, vem crescendo a preocupação com os métodos de diagnóstico de várias doenças.

A babesiose canina é uma doença que acomete cães e canídeos selvagens e tem como agente etiológico o protozoário *Babesia canis*. A forma de transmissão é através da picada do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, porém em outros países se observa a transmissão por outros ixodídeos (HORAK, 1995; LEWIS *et al.*, 1996). Outros modos de transmissão são observados como transfusão de sangue, vetor mecânico (por agulhas de injeção) e via transplacentária (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

Esta enfermidade, de distribuição cosmopolita, ocorre principalmente em regiões tropicais e subtropicais, havendo, porém áreas livres da doença, relacionando-se à existência ou não de carrapatos transmissíveis. Foi primeiramente relatada por Hill e Bolton, em 1966 na Austrália (IRWIN & HUTCHINSON, 1991). Acomete geralmente, em animais jovens, entre 3 e 12 meses de idade, sendo resistentes os neonatos, devido à imunidade transmitida via colostro, e os mais velhos que se infectaram naturalmente (RIBEIRO *et al.*, 1990).

Segundo Corrêa & Corrêa (1992) nos hospedeiros vertebrados, parasita hemácias, apresentando-se, quando corados pelo método de GIEMSA, como protozoários piriformes, cujo citoplasma é azul pálido e o núcleo azul intenso. Ocasionalmente são observados corpúsculos na forma arredondada e em anel. Além disso, podem estar aos pares, ou em número de quatro, oito, dentro da mesma hemácia.

A manifestação clínica pode ser aguda ou crônica, sendo que a aguda é caracterizada por anorexia, apatia, fraqueza, depressão, esplenomegalia, diarreia, pneumonia, febre entre 41-42°C, hemoglobinúria, hemoglobinemia, anemia grave (com menos de 2 milhões hemácias/mm<sup>3</sup>) com curso de três a dez dias, sucedendo a morte ou lenta recuperação. E a forma crônica caracteriza-se por febre intermitente, emaciação, apetite variável, fraqueza, letargia, leve anemia, icterícia branda, esplenomegalia, linfadenopatia (KAGIWARA & CLARK, 1987).

Há trabalhos que consideram a forma superaguda mais frequente (ABDULLAHI *et al.*, 1990). Além disso, observa-se diminuição do número de plaquetas, interferindo na coagulação sanguínea; leucopenia, por neutropenia e linfopenia (KAGIWARA & YAMAGA, 1987). Alguns autores observaram manifestações nervosas (JACOBSON & CLARK, 1994).

O diagnóstico da babesiose é realizado através da

análise clínica, sintomatologia e anamnese, sendo confirmado pelos métodos laboratoriais como esfregaço sanguíneo de ponta de orelha; e sorológicos como ELISA e Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), entre outros.

Matthewman *et al.* (1993) descreveram que a babesiose canina geralmente está associada à ehrlichiose canina. A babesiose canina foi diagnosticada na forma aguda em 26% dos cães e 67% associada com ehrlichiose. A ehrlichiose foi diagnosticada em 52% dos cães e 33% associada com babesiose.

O método, comumente utilizado nas clínicas e hospitais veterinários, para diagnóstico da babesiose é o esfregaço sanguíneo de ponta de orelha, mas este tem se mostrado insuficiente para diagnosticar tal doença, em cursos crônicos e infecções subclínicas devido à intermitência da parasitemia (KAGIWARA & YAMAGA, 1987).

Contudo, conforme comentam Yamane *et al.* (1993a) a RIFI é considerada altamente sensível, porém de moderada especificidade.

Dell'Porto, Oliveira & Miguel (1990) demonstraram que os esfregaços sanguíneos apresentaram 10,3% de positividade para *B. canis*, enquanto que a RIFI apresentou 42,4% de positividade, comprovando então a maior sensibilidade do método sorológico.

Em Belo Horizonte, Irwin & Hutchinson (1991) identificaram anticorpos em 66,9% das amostras de soro por RIFI, sendo que animais com idade inferior a seis meses apresentaram menor frequência de anticorpos, mostrando ser este grupo o de maior risco em adquirir a infecção em área endêmica. Entretanto, não foi identificada diferença estatística significativa entre sexo.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo estudar a ocorrência da *B. canis*, em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, no período de agosto/1996 a janeiro/1997, através do esfregaço sanguíneo e Reação de Imunofluorescência Indireta.

### Material e Métodos

Foram coletadas 143 amostras de sangue de cães, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), dos quais separaram-se os soros, que foram identificados e armazenados em freezer a -20°C.

Para realização da RIFI utilizaram-se lâminas de antígeno de *B. canis* previamente produzidas no laboratório de Parasitologia da UFU.

Os soros foram diluídos a 1:20, 1:40, 1:80 e 1:160 em solução salina tamponada em fosfato (PBS) e os controles positivo e negativo na diluição de 1:20. Estas diluições foram colocadas nos círculos feitos com esmalte para delimitar o antígeno, e levadas à estufa a 37°C em câmara úmida. Posteriormente, a lâmina foi lavada com PBS por cinco

minutos, e em seguida, lavou-se com água destilada por mais cinco minutos (IICA, 1987).

Após a secagem em temperatura ambiente, adicionou-se o conjugado IgG anti-cão (Bio-Lab) marcado com isotiocianato de fluoresceína na diluição 1:100 e posteriormente o material foi incubado, em câmara úmida, em estufa a 37°C. A lâmina foi novamente submetida ao processo de lavagem conforme descrito anteriormente.

Consideraram-se como positivos os soros com diluição maior ou igual 1:20 e como controle negativo os soros com diluição menor que 1:20.

Os soros positivos, quando observados em microscópio epifluorescente, apresentavam os merozoítos fluorescentes dentro das hemácias, em número de dois, quatro ou oito.

No período de agosto/96 a janeiro/97, 772 esfregaços sangüíneos de ponta de orelha foram obtidos aleatoriamente de 1513 animais atendidos no Hospital Veterinário. A leitura da lâmina contendo os esfregaços sangüíneos, corados pelo método de Giemsa para detecção de hematozoários, foi realizada através de observação de todos os bordos da mesma.

### Resultados e Discussão

Das 143 amostras analisadas pela RIFI, 74 (51,74%) eram positivas para babesiose e 69 (48,26%) eram negativas (Fig.1), confirmando a alta sensibilidade do teste descrito por Yamane *et al.* (1993). Esta alta ocorrência no município de Uberlândia provavelmente ocorreu devido a maior ocorrência de *R. sanguineus* na área estudada.



**Figura 1** - Porcentagem de animais positivos e negativos analisados pela Reação de Imunofluorescência Indireta, Uberlândia-MG, 1997

O percentual de cães soros negativos deveu-se provavelmente ao fato destes animais poderem estar no início de uma primoinfecção (IgM positivos) ou mesmo não terem tido contato com o vetor, *R. sanguineus*. Neste contexto a detecção de anticorpos anti - *B. canis* através de RIFI indica que o animal se encontra em estado de premunção.

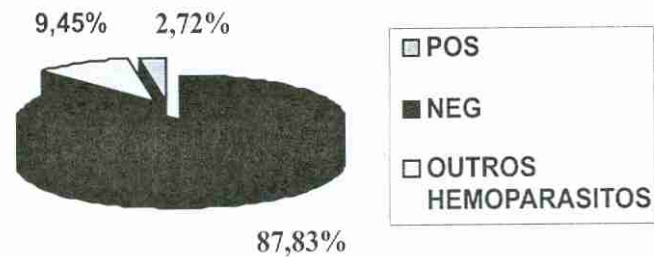
As diluições em que se encontraram os soros positivos variaram de 1:20 a 1:160, sendo a de maior frequência 1:40 (Tab. 1).

**Tabela 1** - Porcentagem dos casos estudados nas diversas diluições analisadas pela RIFI, Uberlândia-MG, 1997.

DILUIÇÃO	1:20	1:40	1:80	1:160
N.º CASOS	14	55	4	1
%	18,92	74,33	5,4	1,35

Dos 772 esfregaços sangüíneos confeccionados, 2,72% (21) eram positivos para *B. canis*, 9,45% (73) apresentaram

outras hemoparasitoses e 87,83% (678) eram negativos (Fig.2).



**Figura 2** - Resultado do teste de esfregaço de ponta de orelha de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFU, Uberlândia-MG, 1997

A ocorrência da enfermidade diagnosticada por RIFI (51,74%) quando comparada com exame de esfregaço sangüíneo (2,72%), reforça a dificuldade de se detectar *B. canis* por este segundo método, principalmente nos casos sub-clínicos e crônicos, estando esta diferença de acordo com o estudo de Dell' Porto, Oliveira & Miguel (1990). Através do teste Qui-quadrado observou-se diferença significativa, ao nível de significância 5%, entre os métodos comparados.

### Conclusão

A ocorrência de babesiose canina no município de Uberlândia-MG, foi de 51,74% quando analisada pela reação de imunofluorescência indireta e de 2,72% pelo esfregaço sangüíneo de ponta de orelha, demonstrando ser o teste sorológico mais sensível para o diagnóstico da babesiose canina.

### Referências

- ABDULLAHI, S.U. *et al.* Sannusi and alafiatayo clinical and haematological findings in 70 naturally occurring cases of canine babesiosis. *Journal of Small Animal Practice*, v.31, p.145-147, 1990.
- CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. Babesioses. In: \_\_\_\_\_. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. p.771-778.
- DELL' PORTO, A.; OLIVEIRA, M.R.; MIGUEL, O. *Babesia canis* em cães de rua da cidade de São Paulo. I. Estudo comparativo de métodos de diagnóstico. *Brazilian Journal of the Veterinary Research Animal Science*, São Paulo, v. 27, p.41-45, 1990.
- FORTES, E. Filo protozoa. In: \_\_\_\_\_. *Parasitologia Veterinária*. Porto alegre: Sulina, 1987. p. 68-72.
- HORAK, I.G. Ixodid ticks collected at the faculty of veterinary science onderstepoort, from dogs diagnosed with *Babesia canis* infection. *South African Veterinary*, v. 66, n.3, 1995, p.170-171.
- IRWIN, P.J.; HUTCHINSON, G.W. Clinical and pathological findings of *Babesia* infection in dogs. *Australian Veterinary Journal*, v. 68, n. 6, p. 204-209, June 1991.
- JACOBSON, L.S.; CLARK, I.A. The pathophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. *South African Veterinary*. v. 65, n. 3, p.134-145, 1994.
- KAGIWARA, M.K.; YAMAGA, A.S. Infecção experimental de cães por *Babesia canis*: I Avaliação de Leucograma durante a evolução da doença. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 39, n. 5, p.745-755.1987.

- KAGIWARA, M.K.; YAMAGA, A.S. Infecção experimental de cães por *Babesia canis*: II Estudo das alterações da coagulação sanguínea. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 39, n. 5, p.757-770, 1987.
- LEWIS, B.D. *et al.* Isolation of a south African vector - specific strain of *Babesia canis*. *Veterinary Parasitology*, v. 63, p.9-16, 1996.
- MARTINOD, S.; LAURENT, N.; MOREAU, Y. Resistance and immunity of dogs against *Babesia canis* in na endemic area. *Veterinary Parasitology*, v.19, n.1, p.1-8, 1987.
- MATTHEWMAN, L.A. *et al.* Infections with *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in dogs in Zimbabwe. *The Veterinary Record*, v.133, p. 344-346, Oct. 1993.
- RIBEIRO, M.F.B.; PASSOS, L.M.F.; LIMA, J.D.; GUIMARÃES, A.M. Frequência de anticorpos fluorescentes anti-*Babesia canis* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.42, n.6, p.511-517, 1990.
- SHAKESPEARE, A.S. The incidence of canine babesiosis amongst sick dogs presented to the Onderstepoort Veterinary Academic Hospital. *Journal South African Veterinary Association*, v. 66, n. 4, p. 247-250, 1995.
- SHORTT, H.E. *Babesia canis*: lyfe cycle and laboratory maintenance in its arthropod and mammalian hosts. *International Journal Parasitology*, Oxford, v. 3, p. 119-148, 1973.
- SWANGO, L.J.; BANKEMPER, K.W.; KONG, L.I. Infecções bacterianas, riquetsiais, protozoais e outras. In: ETTINGER, S. J. *Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato*. 3ed. São Paulo: Manole, 1992. v.1 p. 300-332.
- VERCAMMEN, F.; DEKEN, R.; MAES, L. DE-DEKEN, R. Clinical and serological observations on experimental infections with *Babesia canis* and its diagnosis using the IFAT. *Parasit*, v. 2, n.4, p.407-410, 1995.
- YAMANE, I. *et al.* Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Babesia gibsoni* infections in dogs. *American Journal Veterinary Research*, v. 54, n.10, p.1579-1584, Oct. 1993.

Recebido para publicação em 4/02/2003.

Received for publication on 4 February 2003.

Recibido para publicación en 4/02/2003.

Aceito para publicação em 8/09/2003.

Accepted for publication on 8 September 2003.

Acepto para publicación en 8/09/2003.