

<https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n6a108.1-4>

Detecção molecular de *Babesia canis vogeli* em cães da cidade de São Luís – MA, Brasil

Lygia Silva Galeno^{1*}, Brenda Fernanda Sodré Moreno¹, Andressa Mendes Alves¹, Walkyria Concei o Fonseca¹, Clarissa Costa Dur es¹, Douglas Marinho Abreu¹, Italo Marcelo Reis da Silva¹, Patrícia Thallyta Rocha Ferreira¹, Daniel Praseres Chaves²

¹Discente em Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI. São Luís - MA, Brasil. E-mail: lygiagaleno@outlook.com, brendafernandasm@gmail.com, andressamalves@outlook.com, walkyriaconceicao@hotmail.com, clarissaduraaes@hotmail.com, abreu.dmarinho@gmail.com, marcelo_reis20@hotmail.com, patricia_thallyta@hotmail.com

²Docente do Departamento de Patologia, Universidade Estadual do Maranhão, Campus Paulo VI. São Luís - MA, Brasil. E-mail: daniel@cemitas.com.br
*Autor para correspondência, lygiagaleno@outlook.com

RESUMO. A babesiose   uma enfermidade emergente, de distribui o mundial, causada por protozoários do g nero *Babesia*, que afeta animais domésticos e animais selvagens, bem como em humanos. O objetivo deste estudo foi determinar a ocorrência de *Babesia canis vogeli* em cães na cidade de São Luís – MA, Brasil. Foram coletadas amostras de sangue de 65 animais para exame direto, por meio do esfregaço sanguíneo e diagnóstico molecular, por meio do PCRun. Dentre os 65 animais analisados por meio do diagnóstico direto, nenhum foi positivo para *Babesia* spp. enquanto pela PCRun, constatou-se que 5 (7,69%) estavam infectados por *B. canis vogeli*, demonstrando a presença dessa espécie em cães provenientes de ambiente urbano na cidade de São Luís. Concluiu-se que a PCR é uma técnica mais sensível e específica para esse diagnóstico, podendo ser utilizada para definir com maior precisão a infec o de cães por *B. canis vogeli*. Este estudo confirmou a presença de *B. C. vogeli* em cães na cidade de São Luís – MA.

Palavras chave: *B. canis vogeli*, cães, diagnóstico direto, PCR

Molecular detection of Babesia canis vogeli in dogs in the city of São Luís - MA, Brazil

ABSTRACT. Babesiosis is an emerging, worldwide disease caused by protozoa of the genus *Babesia*, which infects domestic animals and wildlife, as well as humans. The objective of this study was to determine the occurrence of *Babesia canis vogeli* in dogs in the city of São Luís - MA, Brazil. Blood samples were collected from 65 animals for direct examination, through blood smear and molecular diagnosis, through PCRun. Among the 65 animals analyzed by direct diagnosis, none were positive for *Babesia* spp. while PCRun showed that 5 (7.69%) were infected by *B. canis vogeli*, demonstrating the presence of this species in dogs from an urban environment in the city of São Luís. It was concluded that PCR is a more sensitive and specific for this diagnosis, and can be used to define more precisely the infection of dogs by *B. canis vogeli*. This study confirmed the presence of *B. C. vogeli* in dogs in the city of.

Keywords: *B. canis vogeli*, dogs, direct diagnosis, PCR

Detección molecular de Babesia canis vogeli en perros en la ciudad de São Luís - MA, Brasil

RESUMEN. La babesiosis es una enfermedad emergente, de distribución mundial, causada por protozoarios del género *Babesia*, que infecta animales domésticos y animales salvajes, así como en humanos. El objetivo de este estudio fue determinar la ocurrencia de *Babesia canis vogeli* en perros en la ciudad de São Luís - MA, Brasil. Se recogieron muestras de sangre de 65 animales para examen directo, por medio del frotis sanguíneo y diagnóstico molecular, por medio del PCR. Entre los 65 animales analizados por medio del diagnóstico directo, ninguno fue positivo para *Babesia* spp. y en el caso de la PCR, se constató que 5 (7,69%) estaban infectados por *B. canis vogeli*, demostrando la presencia de esta especie en perros provenientes de ambiente urbano en la ciudad de São Luís. Se concluyó que la PCR es una técnica más sensible y específica para ese diagnóstico, pudiendo ser utilizada para definir con mayor precisión la infección de perros por *B. canis vogeli*. Este estudio confirmó la presencia de *B. C. vogeli* en perros en la ciudad de São Luís - MA.

Palabras clave: *B. canis vogeli*, perros, diagnóstico directo, PCR

Introdução

A babesiose canina é uma enfermidade de distribuição mundial e com grande importância veterinária, causada por protozoários do gênero *Babesia*, sendo as espécies *B. canis* e *B. gibsoni* que mais acometem os cães ([Dantas-Torres et al. 2006](#); [Jefferies et al. 2007](#)). A doença é transmitida por carrapatos e resulta em diversas apresentações clínicas como: febre, palidez, icterícia, esplenomegalia, fraqueza, colapso associado com hemólise intra e extravascular, lesão hipóxica, inflamação sistêmica e trombocitopenia ([Irwin 2005](#); [Jacobson 2006](#)).

O diagnóstico pode ser realizado pela visualização dos parasitas no interior dos eritrócitos ou livres no plasma, em esfregaços de sangue periférico corados pelo Giemsa e pela coloração de Romanowsky ([Greene et al. 1993](#); [Ungar de Sá et al. 2007](#)). No entanto, essa técnica apresenta baixa sensibilidade, pois a parasitemia é variável, dificultando a visualização de eritrócitos circulantes parasitados, e pela dificuldade de se fazer a distinção morfológica precisa entre algumas espécies e subespécies. Por esses motivos, as técnicas moleculares, tais como a reação em cadeia da polimerase (PCR), tem sido aplicada, para detectar fragmentos de DNA de *Babesia* spp. e confirmar o diagnóstico da infecção ([Birkenheuer et al. 2004](#)). A PCR é uma técnica sensível e específica, para o diagnóstico da infecção para várias espécies do gênero *Babesia*, pois proporciona o diagnóstico em infecções agudas, subclínicas ou crônicas mesmo nos casos de baixa parasitemia ([Macintire et al. 2002](#)).

Estudos que relatam a prevalência de anticorpos anti-*B. canis vogeli* na região Nordeste são escassos. No estado do Maranhão, poucos estudos têm sido realizados sobre a babesiose canina, apesar de sua alta prevalência, e na cidade de São Luís, especificamente, nada foi publicado. Diante disso, este estudo teve como objetivo determinar a ocorrência de *Babesia canis vogeli* em cães na cidade de São Luís – MA.

Material e Métodos

O presente estudo foi realizado no município de São Luís, que possui área de 831,7 km². O município faz parte da Mesorregião do Norte Maranhense e da Microrregião da Aglomeração Urbana de São Luís, localizadas a norte do Estado do Maranhão. A região está compreendida entre as coordenadas geográficas (02° 31' 47"S; 44° 18' 10"W), com uma população estimada de 1.082.935 habitantes ([IBGE, 2014](#)).

Foram avaliados 65 cães de ambos os sexos, de raças e idades variadas, com suspeita clínica de infecções por hemoparasitos, atendidos em clínicas particulares na cidade de São Luís – MA, Brasil. Após o exame clínico, amostras de sangue foram coletadas com EDTA para a pesquisa de *Babesia* pelos esfregaços sanguíneos diretos. Posteriormente, a mesma amostra foi utilizada para extração de DNA genômico, utilizando-se a tecnologia que envolve a lise celular, adesão para seletividade da membrana celular, remoção dos inibidores através de duas lavagens com PPS e eluição do DNA. A reação de PCR foi baseada na amplificação isotérmica para detecção qualitativa

de *Babesia vogeli* em uma leitora específica para PCRun.

Resultados e Discussão

Dentre os 65 animais analisados por meio do diagnóstico direto, nenhum foi positivo para *Babesia* spp. Após a realização do PCRun, observou-se que 5 (7,69%) amostras foram positivas para *B. canis vogeli*, demonstrando a presença dessa espécie em cães provenientes de ambiente urbano na cidade de São Luís. O diagnóstico direto, embora simples e de fácil execução possui baixa sensibilidade (Harrus et al. 1997), pois fundamenta-se na visualização dos parasitas e avaliação do tamanho e morfologia das formas intra-eritrocíticas (Passos et al. 2005),

A taxonomia das espécies de *Babesia* de origem canina não se encontra totalmente definida, e por esse motivo o diagnóstico definitivo com base em critérios morfológicos pode ser questionado (Passos et al. 2005). Dessa forma, têm-se utilizado, cada vez mais, as técnicas de biologia molecular nos estudos que envolvem a etiologia e a epidemiologia da babesiose canina. Passos et al. (2005) realizaram o primeiro estudo em nível molecular com Babesiose canina e identificou cinco isolados como a subespécie *B. canis vogeli*, os quais apresentavam formas intra-eritrocitárias > 2,5µm.

No presente trabalho, o diagnóstico molecular permitiu a identificação conclusiva sobre o agente etiológico de cinco isolados, ao contrário do método de diagnóstico direto que foi inconclusivo, pois não detectou a infecção, e não é apropriado para a diferenciação entre as espécies de *Babesia*.

A biologia molecular tem contribuído muito para o diagnóstico dessa hemoparasitose, especialmente naqueles cães sintomáticos que não são positivos na pesquisa direta do agente no esfregaço sanguíneo. Além disso, os métodos moleculares permitem a delimitação entre as espécies e subespécies de *Babesia* spp., assim como relatado em diversos estudos epidemiológicos de diferentes países (Zahler et al. 1998; Cacciò et al. 2002; Matjila et al. 2005).

Estudos realizados no Brasil utilizando métodos moleculares encontraram valores semelhantes ao do presente trabalho, como O'Dwyer et al. (2009) que relataram a presença de infecção por *Babesia* spp. em 8% dos cães de áreas rurais do estado de São Paulo. Ramos et al. (2010) observaram positividade de 7,31% de animais para *B. canis vogeli* em Pernambuco, Silva et al.

(2012) identificaram um percentual abaixo do encontrado no presente estudo, onde somente 3,33% dos animais analisados foram positivos para *B. canis vogeli*, na microrregião de Imperatriz, Maranhão.

Confrontando-se os resultados do diagnóstico direto com o diagnóstico molecular, observou-se que cinco animais foram falso-negativos no exame direto, além disso, esses resultados demonstram a baixa sensibilidade do diagnóstico direto, quando comparado ao PCR.

Conclusão

O diagnóstico da babesiose por esfregaço sanguíneo deve ser feita de maneira cautelosa, considerando-se a inespecificidade do teste. Os dados aqui apresentados indicam que a PCR é uma importante ferramenta de diagnóstico, superior ao diagnóstico direto, que pode ser utilizada para definir com maior precisão o estado de infecção dos cães por *B. canis*. Este estudo descreve, pela primeira vez, a confirmação de infecção por *Babesia canis vogeli* em cães na cidade de São Luís, Maranhão.

Referências bibliográficas

- Birkenheuer A.J., Neel J., Ruslander D., Levy M.G. & Breitschwerdt E.B. 2004. Detection and molecular characterization of a novel large *Babesia* species in a dog. *Veterinary parasitology* 124, 151-60.
- Cacciò S.M., Antunovic B., Moretti A., Mangili V., Marinculic A., Baric R.R., Slemenda S.B. & Pieniazek N.J. 2002. Molecular characterisation of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* from naturally infected European dogs. *Veterinary parasitology* 106, 285-92.
- Dantas-Torres F., Figueredo L.A. & Brandão-Filho S.P. 2006. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39, 64-7.
- Greene C.E., Samperio J.O. & Gómez J.P. 1993. *Enfermedades infecciosas: Perros y gatos*. Editora Interamericana, São Paulo.
- Harrus S., Aroch I., Lavy E., Bark H., Redmond C., Hall G.A., Turnbull P.C.B., Gillgan J.S., Kobertz W.R. & Wang D. 1997. Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *The Veterinary Record* 141, 247-50.

- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2014. *Produção da pecuária municipal*. Rio de Janeiro, 42, 1-39.
- Irwin P.J. 2005. Babesiose e cytauxzoonosis. In: *Doenças infecciosas transmitidas por artrópodes do cão e do gato* (eds. by S.E. S & M.J. D), pp. 63-77. Manson Publishing, The Veterinary Press, Londres. UK.
- Jacobson L.S. 2006. The South African form of severe and complicated canine babesiosis: clinical advances 1994–2004. *Veterinary parasitology* 138, 126-39.
- Jefferies R., Ryan U.M. & Irwin P.J. 2007. PCR–RFLP for the detection and differentiation of the canine piroplasm species and its use with filter paper-based technologies. *Veterinary parasitology* 144, 20-7.
- Macintire D.K., Boudreaux M.K., West G.D., Bourne C., Wright J.C. & Conrad P.A. 2002. *Babesia gibsoni* infection among dogs in the southeastern United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220, 325-9.
- Matjila T.P., Nijhof A.M., Taoufik A., Houwers D., Teske E., Penzhorn B.L., De Lange T. & Jongejan F. 2005. Autochthonous canine babesiosis in The Netherlands. *Veterinary parasitology* 131, 23-9.
- O'Dwyer L.H., Lopes V.V.A., Rubini A.S., Paduan K.D.S. & Ribolla P.E.M. 2009. *Babesia* spp. infection in dogs from rural areas of São Paulo State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 18, 23-6.
- Passos L.M.F., Geiger S.M., Ribeiro M.F.B., Pfister K. & Zahler-Rinder M. 2005. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. *Veterinary parasitology* 127, 81-5.
- Ramos R., Ramos C., Araújo F., Oliveira R., Souza I., Pimentel D., Galindo M., Santana M., Rosas E. & Faustino M. 2010. Molecular survey and genetic characterization of tick-borne pathogens in dogs in metropolitan Recife (north-eastern Brazil). *Parasitology research* 107, 1115-20.
- Silva A.B., Costa A.P., De Sá J.C., Costa F.B., Santos A.C.G. & Rita de Maria S.N.C. 2012. Detecção molecular de *Babesia canis vogeli* em cães e em *Rhipicephalus sanguineus* na mesorregião do oeste maranhense, nordeste brasileiro. *Ciência Animal Brasileira* 13, 388-95.
- Ungar de Sá M.F.M., Ungar de Sá J.E., Bittencourt D.V.V., Bispo A.C.D., Régis A.M.M., Souza Filho N.J., Gomes Neto C.M.B., Souza B.M.P.S., Bittencourt T.C.B.S. & Franke C.R. 2007. Estudo retrospectivo (1991-2005), dos casos de babesiose canina na cidade de Salvador e Região Metropolitana, Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 8, 178-83.
- Zahler M., Schein E., Rinder H. & Gothe R. 1998. Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs. *Parasitology research* 84, 544-8.

Article History:

Received 16 January 2018

Accepted 1 March 2018

Available online 31 May 2018

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.