

Prevalência de anticorpos anti-*Anaplasma marginale* na Região Metropolitana do Recife utilizando ELISA rMSP2

Valeska Shelda Pessoa de Melo^{1a}, Leucio Câmara Alves^{2b}, Flávio Ribeiro de Araújo^{3c}, Carlos Alberto Ramos do Nascimento^{3d}, Taciana Galba da Silva Tenório^{2e}, Lúcio Honório Esmeraldo de Melo^{2f}, Maria Aparecida da Gloria Faustino^{2g}, *Tereza D'ávila de Freitas Aguiar^{1h}

¹Universidade Estadual do Ceará/UECE - CE; ²Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE – PE; ³EMBRAPA/CNPQC - MS

^amelovsp@ig.com.br, ^bleucioalves@gmail.com, ^cflavio@cnpqc.embrapa.br, ^dcarlosanramos@yahoo.com.br, ^etacianagalba@yahoo.com.br, ^flucio.melo@pq.cnpq.br, ^gmagfaustino@hotmail.com, ^hdavilavet@gmail.com

RESUMO

Foi realizada a pesquisa de anticorpos da classe IgG anti-*Anaplasma marginale* por meio do ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) indireto utilizando MSP2 recombinante, em bovinos provenientes da Mesorregião Metropolitana do Recife. Foram utilizadas 324 amostras de soros de animais. A prevalência observada foi de 95,7%, caracterizando a mesorregião Metropolitana do Recife como de estabilidade enzoótica para anaplasmoses bovina.

Palavras-chave: anaplasmoses, *Anaplasma marginale*, ELISA

Introdução

A anaplasmoses é uma doença infecciosa causada por uma riquetsia intraeritrocítica obrigatória, responsável por grandes prejuízos à pecuária bovina mundial, sendo transmitida principalmente por carrapatos. No Brasil, a espécie que se destaca como agente causal desta doença nos bovinos é o *Anaplasma marginale*.

Investigações epidemiológicas têm demonstrado variações na soroprevalência da anaplasmoses bovina, revelando áreas de estabilidade e instabilidade enzoóticas. Na maioria das regiões do Brasil, a situação epidemiológica dessa doença é caracterizada como de estabilidade enzoótica. Nas poucas áreas de instabilidade existentes, as condições climáticas, bem como práticas inadequadas de manejo determinam baixas populações de vetores transmissores, e manifestações clínicas seguidas de morte normalmente são observadas.

As técnicas sorológicas têm sido consideradas importantes ferramentas para a caracterização epidemiológica de determinada região, contudo diferenças na sensibilidade e especificidade dos testes têm sido levadas em consideração na determinação da prevalência devido a reações falso-positivas. Neste sentido o método de imunoadsorção enzimática (ELISA) utilizando proteínas conservadas entre os diferentes isolados brasileiros, constitui-se num método indicado, pois apresenta elevadas especificidade e sensibilidade.

Devido à falta de conhecimento sobre a situação epidemiológica da anaplasmoses bovina no estado de Pernambuco, o presente trabalho teve como objetivo investigar a soroprevalência de *A. marginale* em bovinos provenientes da Mesorregião Metropolitana do Recife, através de ELISA utilizando como antígeno a proteína MSP2 recombinante.

Metodologia

Foram utilizadas 324 amostras de soros de bovinos adultos provenientes de seis municípios da Mesorregião Metropolitana do Recife, Estado de Pernambuco: Cabo de Santo Agostinho, Camaragibe, Igarassu, Moreno, Paulista e Recife. As amostras foram obtidas de dez rebanhos com aptidão leiteira ou mista, criados de forma intensiva e semi-intensiva, com fenótipos predominantemente de Girolando, e das raças Holandesa e Pardo-Suiça.

A pesquisa de anticorpos contra *A. marginale* foi realizada por meio de ELISA indireto utilizando como antígeno a proteína MSP2 recombinante purificada de membrana de *A. marginale* proveniente de isolado brasileiro (Pernambuco - Zona da Mata).

Placas de 96 poços foram adsorvidas com 5,7 µg/poço de rMSP2, diluídas em salina fosfatada de Dullbecco, pH 7,2, por quatro horas, a 4°C. As placas foram bloqueadas com 100 µl/poço de soro equino a 5%, diluído em tampão fosfato com 0,1% de Tween (PBST), pH 7,2, por 60 minutos, a 37°C. Após três lavagens com PBST, 100 µl/poço dos soros controle e testes, diluídos em PBST a 1:600, foram incubados por 60 minutos a 37°C. As placas foram então lavadas cinco vezes com PBST, e 100 µl/poço de IgG de coelho anti-IgG bovina marcada com peroxidase (Sigma), diluído em PBST, foi

adicionado aos poços. As placas foram incubadas por 30 minutos a 37°C e, após cinco lavagens com PBST, 50 µl/poço de H₂O₂/Orto-fenileno diamina foi adicionado. A reação foi parada após 10 minutos, pela adição de H₂SO₄ (2,5 N) e os resultados obtidos em leitor com filtro de 490 nm.

A taxa de prevalência foi determinada segundo Centro Panamericano de Febre Aftosa (1979), e a caracterização epidemiológica da mesorregião foi avaliada segundo Mahoney e Ross (1972), onde a estabilidade enzoótica é estabelecida com prevalência ≥ 75%. O nível de significância utilizado nas decisões dos testes estatísticos foi de 5%.

Resultados e discussão

Das 324 amostras de soros analisadas, observou-se que 95,7% (310/324) apresentaram anticorpos anti-*A. marginale* para o ELISA rMSP2 (TABELA).

O resultado da prevalência observado foi superior àqueles registrados no Estado de Santa Catarina, onde 86% dos animais foram soropositivos pelo teste de IFI (Dalagnol et al., 1995); na Zona da Mata no Estado de Minas Gerais, onde Ribeiro et al. (1984) detectou 81,10% de animais sororregantes pelo mesmo teste descrito anteriormente; em Londrina no Paraná, cuja prevalência observada de animais reagentes para *A. marginale* foi de 67,4% (Vidotto et al., 1995); na microrregião de Bagé, no Rio Grande do Sul, Artiles et al., (1995) determinaram ser de 64% a prevalência da anaplasmoze bovina; e no Estado de Sergipe, onde a prevalência média nos rebanhos estudados foi de 16,3% (Oliveira et al., 1992).

Por outro lado, o resultado do presente estudo foi inferior às prevalências determinadas nos rebanhos leiteiros na Bahia, por Araújo et al. (1998) através de ELISA indireto e IFI com taxas de 96,90% e 97,20%, respectivamente; na microrregião de Goiânia em Goiás, onde 96,92% e 99,23% dos animais foram reagentes para *A. marginale* respectivamente aos testes IFI e ELISA indireto (Santos et al., 2001) e na mesorregião do Médio Paraíba no Rio de Janeiro, onde a prevalência da anaplasmoze bovina foi de 98,21% (Souza et al., 2001).

Tabela – Prevalência de bovinos com sorologia positiva para *Anaplasma marginale*, utilizando ELISA rMSP2, na Mesorregião Metropolitana do Recife, Estado de Pernambuco.

Município	ELISA rMSP2		
	Nº de soros analisados	Soros positivos	%
Cabo de Santo Agostinho	20	20	100,0
Camaragibe	190	178	93,7
Iguarassu	49	48	97,9
Moreno	13	13	100,0
Paulista	38	37	97,4
Recife	14	14	100,0
TOTAL	324	310	95,7

A análise estatística revelou que não houve diferença significativa entre os índices de prevalência dos diferentes municípios da mesorregião do Recife ($p < 0,05$).

Conforme resultado da prevalência de anticorpos contra *A. marginale*, obtida no ELISA com rMSP2, a mesorregião Metropolitana do Recife foi classificada como área de estabilidade enzoótica para anaplasmoze bovina (Mahoney e Ross, 1972).

A prevalência de *A. marginale* é considerada elevada na maioria do território brasileiro, sendo caracterizado segundo Mahoney e Ross (1972) como área de estabilidade enzoótica, entretanto, alguns estudos têm demonstrado variações na soroprevalência da anaplasmoze, indicando situações de instabilidade (Oliveira et al., 1992, Artiles et al., 1995, Vidotto et al., 1995).

Diferenças nas condições climáticas de cada região do Brasil, a utilização de animais com maior grau de sangue com tendência leiteira, introdução de animais de áreas livres em áreas endêmicas, falha na imunidade passiva, além da frequência da população de carrapatos e da dinâmica de transmissão do *A. marginale* podem ser responsáveis pelas taxas de prevalência observadas nas regiões brasileiras.

Não obstante, a adoção de algumas práticas de manejo visando aumento da produtividade dos rebanhos, como aleitamento artificial de bezerros, o uso de bezerreiros individuais, utilização exagerada de carrapaticidas e inseticidas, reduz o contato dos animais com vetores, favorecendo o desenvolvimento de áreas de instabilidade e contribuindo de maneira significativa na resposta dos animais a infecção contra *A. marginale* (Ribeiro et al., 1984).

A situação epidemiológica da anaplasmose na Mesorregião Metropolitana do Recife pode ser explicada pelas suas condições climáticas, uma vez que apresenta clima tropical úmido. Desta forma, a infecção por *A. marginale* pode ser considerada alta e homogênea nessa região enzooticamente estável, apresentando condições favoráveis ao desenvolvimento do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, vetor biológico de *A. marginale* no Brasil, permitindo provavelmente a infecção dos bezerros nos primeiros meses de vida, tendo como consequência o desenvolvimento de imunidade ativa contra esta riquetsia antes do desaparecimento dos anticorpos colostrais. A alta prevalência encontrada nesta região indica que medidas de imunização não são necessárias nos animais nativos, porém apontam riscos na introdução de animais importados de áreas livres ou de instabilidade.

Referências Bibliográficas

ARAÚJO, F. R. et al. Frequência de anticorpos anti-*Anaplasma marginale* em rebanhos leiteiros da Bahia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 50, 3, 243-246, 1998.

ARTILES, J. et al. Prevalência de *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale* no município de Bagé, RS. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4, 179, 1995.

CENTRO PAN-AMERICANO DE FEBRE AFTOSA. *Encuesta por muestro para estudios epidemiologicos en poblaciones animals*. Rio de Janeiro, 1979. 60p. (Série de manuales didacticos, n.12).

DALAGNOL, C. A., MARTINS, E., MADRUGA, C. R. Prevalência de anticorpos contra *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale* em bovinos de corte na região de clima Cfb. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4, 220, 1995.

MAHONEY, D. F., ROSS, D.R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Aust. Vet. J.*, 48, 292-298, 1972.

OLIVEIRA, A. A., PEDREIRA, P. A. S., ALMEIDA, M. F. R. S. Doenças de bezerros. II. Epidemiologia da anaplasmose no Estado de Sergipe. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 44, 377-386, 1992.

RIBEIRO, M. F. B. et al. Epidemiologia da anaplasmose bovina no Estado de Minas Gerais. I- Prevalência de anticorpos aglutinantes e fluorescentes na Zona da Mata. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 36, 425-432, 1984.

SANTOS, H. Q. dos, MADRUGA, C. R., LINHARES, G. F. C. Estudo da prevalência de anticorpos anti-*Anaplasma marginale* em bovinos de leite da microrregião de Goiânia, pela reação de imunofluorescência indireta e ELISA. *Rev. Bras. Ciência. Vet.*, 8, 31-34, 2001.

SOUZA, J. C. P et al. Prevalência de anticorpos anti-*Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) em bovinos na Mesorregião do Médio Paraíba. *Ciência Rural Sta. Maria*, 31, 309-314, 2001.

VIDOTTO, O. et al. Ocorrência de *Babesia bigemina*, *B. bovis* e *Anaplasma marginale* em rebanhos leiteiros da região de Londrina, PR. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4, 184, 1995.