

085 - VACINAÇÃO EXPERIMENTAL DE BOVINOS COM PEPTÍDEO SINTÉTICO DE RAP-1 DE *Babesia bovis*: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS PARASITOLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS

J.F.F. Bittar¹, A.P.V. Marciano², O.A. Martins Filho², M.F.B. Ribeiro¹
¹Instituto de Estudos Avançados em Veterinária - UNIUBE; ²Centro de Pesquisas René Rachou; ³Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

Para a avaliação da imunogenicidade do peptídeo sintético RAP-1 de *B. bovis*, 15 bovinos, livres de hemoparasitoses foram separados em três grupos de cinco animais. Bovinos do Grupo Peptídeo, Saponina e Controle receberam respectivamente, por via subcutânea, nos dias D-90, D-60 e D-30, 2mg do peptídeo emulsionado em saponina, saponina e soro fisiológico. Trinta dias após, foram desafiados com 5x10⁸ hemácias parasitadas com *B. bovis* virulenta. Amostras de sangue e soro foram colhidas para a realização do estudo cinético de parâmetros parasitológicos (esfregaço de ponta de orelha e hidroetidina) e imunológicos. Nos estudos parasitológicos, observou-se que a citometria de fluxo permitiu detectar *B. bovis* a partir do segundo dia após o desafio e manteve-se positiva por todo o experimento, enquanto que o esfregaço de ponta de orelha, a detecção ocorreu a partir do terceiro dia, mas foi inconstante. A avaliação imunológica da resposta imune celular (*ex vivo* e *in vitro*) foi realizada por imunofenotipagem de leucócitos periféricos, com anticorpos monoclonais bovinos anti CD4, CD8 marcados com FITC e CD21 não marcado. A resposta imune humoral foi realizada por ELISA. A análise dos resultados revelou que o Grupo Peptídeo desenvolveu resposta imune protetora precoce envolvendo linfócitos TCD4⁺, células B e células não T não B (NTNB). O grupo controle foi capaz de montar uma resposta antígeno específica pós-desafio envolvendo células B, mas não células TCD4⁺. O Grupo Saponina apresentou alto percentual de células NTNB. A resposta linfoproliferativa *in vitro* na presença do mitógeno (Con-A) mostrou-se diminuída em todos os animais inoculados com *B. bovis*, enquanto que a resposta antígeno específica apresentou-se elevada (Grupo Peptídeo). Portanto, pode-se considerar que a imunização com o peptídeo sintético de RAP-1 de *B. bovis* foi capaz de reduzir a taxa de mortalidade nos animais imunizados e desenvolver resposta antígeno específica envolvendo resposta celular, humoral e inata.

086 - AVALIAÇÃO MOLECULAR DA TAXA DE INFECÇÃO POR *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* EM BOVINOS DE DIFERENTES GRUPOS GENÉTICOS

M.C.S. Oliveira¹, L.C.A. Regitano¹, M.M. Allencar¹, A.M. Silva¹, T.C.G. Oliveira-Sequeira², H.N. Oliveira²
¹Embrapa - CPPSE; ²UNESP - Botucatu

A resistência dos bovinos de raças zebuínas às babesioses constitui uma das razões pelas quais estes animais mantêm altos índices de produtividade, mesmo sob as condições de endemicidade que ocorrem no Brasil. No entanto, animais cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* apresentam graus variáveis de susceptibilidade, cuja investigação depende de métodos de diagnóstico sensíveis e específicos. No presente trabalho, as taxas de infecção por *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* foram determinadas pela amplificação de DNA (PCR - nPCR) em amostras de sangue de 40 fêmeas Nelore, 41 Canchim/Nelore, 41 Angus/Nelore e 38 Simental/Nelore distribuídas em três faixas etárias: 59 de 11 a 15 meses, 54 de 16 a 40 meses e 47 de 41 a 72 meses. A amplificação de DNA por PCR permitiu a detecção de *B. bovis* em 50%, 25% e 0% dos animais e de *B. bigemina* em 66,1%, 44,5% e 0%, ambos em ordem crescente de idade ($p < 0,05$). Entretanto a presença de *B. bovis* em 97,4% e de *B. bigemina* em 90,5% das amostras, verificadas após a utilização de nPCR, revelaram não haver diferenças nas taxas de infecção por ambas as espécies em função da idade dos animais e do grupo genético ($p < 0,05$). A utilização de uma segunda amplificação de DNA (nPCR), para aumentar a sensibilidade do diagnóstico, foi particularmente necessária para a detecção das infecções em animais a partir dos 15 meses de idade, provavelmente em função da pequena quantidade de protozoários no sangue dos animais. As altas taxas de infecção observadas indicam que a área estudada apresenta estabilidade endêmica para as babesioses.

087 - BABESIOSE FELINA NO BRASIL: UMA NOVA ESPÉCIE?

G. S. Gazeta¹, A. Monteiro², A. E. Aboud-Dutra^{1,2}
¹Departamento de Entomologia, IOC / FIOCRUZ - gsgazeta@ioc.fiocruz.br
²Policlínica Veterinária, UNESA

A babesiose é uma doença, cujas manifestações clínicas variam em função do curso evolutivo. As características imunológicas do hospedeiro e a virulência da cepa influenciam na evolução clínica, podendo causar óbito na sua forma. É causada por protozoários do gênero *Babesia* que acomete diferentes espécies de mamíferos, incluindo felinos. O objetivo deste trabalho é o de analisar morfológicamente espécimes de *Babesia* sp. encontrados em felino. Uma fêmea de *Felis catus*, sem raça definida, com aproximadamente dois anos de idade, foi encaminhada a Policlínica Veterinária da Unigranrio, em Silva Jardim/ RJ, com o quadro de icterícia e inapetência acentuada. Esfregaço sanguíneo foi confeccionado e encaminhado ao Lab. de Ixódides do IOC para exame. Foi constatada a presença de parasitos intra-eritrocitários, pleomórficos, em forma de dímeros, tetrades ou corpos únicos, identificados a *Babesia* sp. As formas de dímeros tinham dimensões que variavam de 1.2 a 1.8 micrômetros de comprimento, com média de 1.5 micrômetros, e com 0.7 a 1.0 micrômetro de largura, com média de 0.9 micrômetro. Entre as espécies que acometem felinos, *B. cati*, *B. herpauri* e *B. pantherae* são consideradas grandes babesias, sendo metricamente diferentes da *Babesia* encontrada neste estudo. Entre os pequenos babesídeos de felinos *B. felis* é pleomórfica, apresentando a forma de tetrade, mas com comprimento inferior às medidas ora obtidas. Medidas próximas, mas com comprimento também inferior, foram obtidas para *B. leo*. Assim, estas espécies também não se enquadram nas características morfológicas dos espécimes analisados. Apesar da existência de relato de casos da *Babesia* sp. em felinos no Brasil; as características morfológicas não possibilitaram uma diagnose específica, indicando a provável presença de uma nova espécie de *Babesia*.

088 - COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DIRETO NA DETECÇÃO PRECOCE DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE *Babesia bigemina* E *Babesia bovis*

L.M. Costa-Júnior¹, E.M.L. Rabelo¹, O.A. Martins-Filho², M.F.B. Ribeiro¹

¹ - Departamento de Parasitologia ICB/UFMG
² - Centro de Pesquisa René Rachou - CPQRR/FIOCRUZ

O objetivo deste trabalho foi comparar métodos de diagnóstico direto na detecção de *Babesia bigemina* e *B. bovis*, em animais experimentalmente inoculados com amostras atenuadas. Oito bezerros Holandês-Zebu foram divididos em dois grupos: Grupo-I inoculados com *B. bigemina* e Grupo-II com *B. bovis*. No 23º dia após a primeira inoculação os bezerros do Grupo-I foram inoculados com *B. bovis* e os do Grupo-II com *B. bigemina*. Amostras de sangue dos animais foram examinadas diariamente até o 44º DPI, empregando a pesquisa de parasito em esfregaços sanguíneos (ES), a detecção de hemácias infectadas fluorescentes pela citometria de fluxo (CF) e pesquisa de DNA do parasito por PCR e nPCR. As primeiras hemácias parasitadas de *B. bigemina* foram detectadas pelo ES, entre o 7,5 e 13 DPI e a *B. bovis* entre o 8 e 9 DPI. Entretanto, o encontro de *Babesia* spp foi um achado inconstante devido as baixas parasitemias observadas. Utilizando a CF, o corante de ácidos nucleicos Hidroetidina, detectou hemácias fluorescentes de *B. bigemina* entre o 1,5 e 1,7 DPI e de *B. bovis* entre 2,2 e 2,5 DPI, mas não permitiu diferenciar as espécies de *Babesia* em infecções mistas. Ao utilizar a PCR foi possível detectar a *B. bigemina* entre o 3 e 4 DPI, e a *B. bovis* entre 2,3 e 4 DPI, entretanto apenas 75% e 25% dos animais inoculados no Grupo I e II, respectivamente, foram positivos para *B. bovis*. A técnica de nPCR permitiu detectar *B. bigemina* no 2 e 3 DPI e *B. bovis* no 4,7 DPI, constatando após a segunda inoculação positividade de ambas as babesias, em todos os animais inoculados. O índice Kappa demonstrou que a concordância entre os testes não foi significativa. Dentre as técnicas utilizadas a nPCR foi a que detectou baixas parasitemias de *B. bigemina* e de *B. bovis* mais precocemente.

Palavras-chave: *Babesia bovis*; *Babesia bigemina*; diagnóstico