

Aspectos clínicos da premunicação contra *Babesia* (Starcovici, 1893) e *Anaplasma* (Theiler, 1910) em bovinos da raça Simental

Clinical aspects of premunition measures against *Babesia* (Starcovici, 1893) and *Anaplasma* (Theiler, 1910) in Simental bovines

Flávio Augusto Soares Graça,* Luiz Felipe Castro Graeff Vianna,** Paulo César Amaral Ribeiro da Silva,*** José Renato Junqueira Borges****

Resumo

Trinta e oito fêmeas *Bos taurus* da raça Simental com idade variando entre 1 e 4 anos, importadas da Áustria e da Alemanha, foram submetidas ao processo de premunicação no município de Aracruz, Estado do Espírito Santo. Foram utilizados 0,6ml de um inóculo de *Babesia bigemina* compreendendo $1,8 \times 10^8$ hemácias parasitadas por ml de sangue, 1,0 ml de um inóculo de *Babesia bovis* com $1,0 \times 10^8$ hemácias parasitadas por ml de sangue, ambas atenuadas por passagem em bezerras esplenectomizadas e 0,5 ml de um inóculo de *Anaplasma marginale* contendo $1,2 \times 10^8$ hemácias parasitadas por ml de sangue. Além do acompanhamento clínico, foram realizados exames de esfregaço sangüíneo e do volume globular. Quarenta e oito dias após a inoculação, foi realizado o desafio com sangue de animal sorologicamente positivo para *B. bovis*, *B. bigemina* e *A. marginale*. Durante o experimento, foram coletadas três amostras de soro sangüíneo dos animais, nos dias 0, 47 e 80 após a inoculação, para realização da prova da imunofluorescência indireta (IFA). O inóculo de *B. bigemina* e *B. bovis* provocou sintomatologia clínica em apenas um animal. O inóculo de *A. marginale* apresentou uma elevada patogenicidade com um período de incubação médio variando de 24 a 26 dias e sete animais apresentaram recidiva. Após o desafio, 26 animais apresentaram sintomatologia de babesiose e o período prepatente variou de 8 a 26 dias após o desafio. Trinta e dois dias após o desafio, todos os animais dos quatro lotes apresentaram títulos acima de 1:320 para *Anaplasma marginale*, 15 apresentaram títulos negativos e 23 apresentaram títulos acima de 1:40 para *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*.

Palavras-chave: premunicação; babesiose; tristeza parasitária; anaplasmoze; *Babesia*; *Anaplasma*; bovinos; doenças parasitárias.

Abstract

Thirty eight female of the *Bos taurus* species, Simental breed, ages ranging from 2 to 4 years old, imported from Austria and Germany, were subjected to premunition process in the county of Aracruz, Espírito Santo State. *Babesia bigemina* inoculum have been used with 0,6 ml with 1.8×10^8 /ml parasitized red blood cells, and *Babesia bovis* inoculum with 1,0 ml with 1.0×10^8 / ml parasitized red blood cells both attenuated through passage in splenectomized calves, and *Anaplasma marginale* inoculum with 1.2×10^8 parasitized cells / ml. In addition to clinical accompaniment, packed cell volume and blood smears were performed. Forty eight days after the inoculation the challenge with blood of seropositive animals for *B. bovis*, *B. bigemina* and *A. marginale* were made. During the experiment, three samples of blood serum from the animals were collected on the days 0, 47 and 80 after the inoculation for immunofluorescence assay (IFA). The inoculum with *B. bovis* and *B. bigemina* caused clinical sintomatology in only one animal. The inoculum with *A. marginale* showed high pathogenicity with a period of incubation of about 24 to 26 days and seven animals presented recurrence. After the challenge, twenty six animals presented sintomatology for babesiose and the incubation period range from 8 to 26 days after the challenge. After the thirty second day of the challenge, all animals presented titers above 1:320 for *Anaplasma marginale*, 15 presented negative titers and 23 presented titers above 1:40 for *B. bigemina* and *B. bovis*.

Keywords: premunition, babesiose, anaplasmoze, *Babesia*, *Anaplasma*, bovine, cattle, parasitary diseases.

* Prof. Adjunto, Faculdade de Medicina Veterinária da Fundação Educacional Dom André Arcoverde – FAA, Rua Sargento Victor Hugo, 161, Bairro de Fátima, CEP 27600-000 – Valença, RJ.

** Prof. Titular, Departamento de Medicina e Cirurgia, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ.

*** Prof. Adjunto, Faculdade de Medicina Veterinária da Fundação Educacional Dom André Arcoverde

**** Prof. Titular, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

Introdução

A babesiose e a anaplasmosse bovina, também conhecidas no Brasil como Tristeza Parasitária, Febre dos Carrapatos ou "Tristeza", são hemoparasitoses comumente encontradas nas áreas tropicais e subtropicais do mundo onde existem carrapatos. Essas enfermidades são responsáveis por provocarem a perda de peso, queda na produção de leite, de carne e influenciam negativamente na reprodução, além da alta taxa de mortalidade, causando grandes prejuízos à bovinocultura (Emerson et al., 1974; Todorovic, 1975; Massard, 1990).

Mahoney (1977), citado por Kreier (1977), afirmou que a imunização contra a babesiose consiste na transmissão da doença a animais susceptíveis através da inoculação de sangue infectado e do subsequente tratamento com droga babesicida para prevenção contra o agravamento da doença e morte do animal. Disse ainda que o maior problema para profilaxia está na padronização da vacina, devido ao número de cepas e suas diferentes virulências. A atenuação da *B. bovis* (Babés, 1888) por contínuas passagens em bezerros esplenectomizados tem-se mostrado um método de padronização de um inóculo usando 10^7 organismos por dose, que causa uma reação menos severa ao animal, sendo rara a necessidade de tratamento.

A despeito dos estudos para o desenvolvimento de vacinas, sejam elas feitas com *Anaplasma centrale* ou vacina morta de *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910), seus resultados ainda são contraditórios, sendo a premunição, quando bem feita, uma medida de alta eficiência na proteção do gado importado, porém o uso do *A. marginale* virulento resulta em 100% de morbidade e, sem controle laboratorial, pode ocasionar elevada taxa de mortalidade (Corrêa e Corrêa, 1992).

Loss (1991) demonstrou que a utilização do inóculo padronizado congelado é uma opção viável e eficiente para ser empregada no programa de premunição. Além de tornar o período prepatente mais uniforme, permite uma maior programação das atividades e um efetivo controle das doenças transmitidas durante a inoculação.

Entretanto, a premunição no Brasil é ainda realizada de maneira empírica, pois pouco se conhece sobre as alterações que ocorrem durante a premunição em nosso meio (Kohayagawa, 1985).

O presente trabalho tem como objetivo estudar as variações clínicas apresentadas por bovinos da raça Simental durante o processo de premunição, buscando com isso, delinear parâmetros que possam contribuir para a segurança e eficácia deste método de prevenção.

Material e métodos

A premunição foi realizada no município de Aracruz, estado do Espírito Santo, no período de 1 de fevereiro a 20 de abril de 1995, em 38 fêmeas da raça Simental, com idade variando entre 13 e 48 meses, procedentes da Alemanha e Áustria. Vinte e quatro se encontravam prenhes no terço médio e final da gestação.

Os animais foram embarcados na Bélgica no dia 19 de janeiro de 1995, quando a temperatura ambiente média era de -18°C e chegaram ao Brasil, desembarcando no dia 20

de janeiro de 1995, quando a temperatura média era de 30°C . Após o desembarque, foi fornecida água para os animais e as fêmeas em lactação foram ordenhadas. Depois, os animais foram embarcados em um caminhão para dar continuidade à viagem ao município de Aracruz, situado a 500 km de Belo Horizonte.

No dia 21 de janeiro de 1995, os animais, ao chegarem à fazenda, foram acomodados em uma instalação de concreto do tipo *free stall* a qual confere a possibilidade de um isolamento de outros animais ou de pastagens com presença de carrapatos. Vinte quatro horas após a chegada, os animais foram submetidos a um exame clínico, foram coletadas fezes de 15% dos animais para exame coproparasitológico, além de sangue venoso de todos, para obtenção de soro.

Durante toda a premunição, os animais receberam uma alimentação padronizada, à base de feno de capim "Coast-cross" (*Cynodon nleavesens* X *Cynodon dactylon*), capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), concentrado, além de uma mistura mineral e água à vontade.

Os animais foram submetidos a um período de aclimação e descanso durante 10 dias e foram tosquiados a fim de diminuir o estresse calórico.

Foram realizados uma inoculação e um desafio. A primeira, no dia 1 de fevereiro de 1995, com inóculos elaborados pelo professor José Divino Lima, da Universidade Federal de Minas Gerais, a partir do sangue de bezerros esplenectomizados, sorologicamente negativos para leucose, brucelose, leptospirose, diarreia bovina a vírus e rinotraqueíte infecciosa bovina, infectados com *B. bigemina* (Smith e Kilborne, 1893), *B. bovis* e *A. marginale*. Este inóculo foi padronizado com as seguintes concentrações:

- 1,2 X 10^8 hemácias parasitadas com *A. marginale* por ml de sangue, sendo inoculado 0,5 ml por animal por via subcutânea;
- 1,8 X 10^8 hemácias parasitadas com *B. bigemina* por ml de sangue, sendo inoculado 0,6 ml por animal por via subcutânea;
- 1,0 X 10^8 hemácias parasitadas com *B. bovis* por ml de sangue, sendo inoculado 1,0 ml por animal por via subcutânea.

Até o momento da inoculação, o inóculo foi transportado e mantido em nitrogênio líquido a uma temperatura de -196°C .

O desafio foi realizado 48 dias após a inoculação, utilizando-se sangue venoso em citrato de sódio e dextrose, mantido sob refrigeração. O sangue foi obtido através da punção da veia jugular de uma vaca adulta da raça Simental, criada na região, sorologicamente positiva para *B. bigemina*, *B. bovis* e *A. marginale* e sorologicamente negativa para brucelose, tuberculose, leucose bovina, rinotraqueíte bovina infecciosa e diarreia viral bovina. Foram inoculados 5 ml de sangue, por via subcutânea, em cada animal.

Durante os 80 dias de premunição, foram coletadas amostras de sangue de vasos da extremidade da cauda de todos os animais a cada 48 horas para confecção de esfregaços sangüíneos, objetivando a pesquisa de hemoparasitas. Os animais que se apresentavam em fase clínica da enfermidade eram examinados diariamente. Os esfregaços foram corados pelo Giemsa e observados em microscópio óptico, em objetiva de imersão. A parasitemia para *A. marginale* foi calculada a partir da contagem de cinco campos de 100 hemácias

e expressa em porcentagem de hemácias parasitadas. Além da parasitemia, durante a hematoscopia outros elementos eram observados para melhor avaliação clínica do animal, como a presença de reticulócitos.

A temperatura retal dos animais foi registrada de 12 em 12 horas, começando no dia seguinte à chegada dos animais, até o 80º dia após a data da inoculação.

Cada animal teve seu volume globular determinado antes da inoculação e a partir da mesma, registrado a cada 96 horas, durante os 80 dias após a inoculação. Durante a fase clínica da doença, o volume globular dos animais era acompanhado diariamente. Foi usada a técnica de microhematócrito, com coleta de sangue da veia marginal da orelha.

Todos os animais foram tratados de acordo com a necessidade estabelecida a partir dos seguintes parâmetros: animal que apresentava no exame de esfregaço sanguíneo a presença de hemácias parasitadas por *Babesia* sp. e queda do volume globular, foi medicado com 3.5 mg/kg p.v. de diacetato de 4,4 diazoaminodibenzamida,¹ por via intramuscular profunda em dose única; o animal que apresentava no exame do esfregaço presença de parasitemia a partir de 1,0% para *A. marginale* foi medicado com 10 mg/kg p.v. de cloridrato de oxitetraciclina,² por via endovenosa a cada 24 horas, durante três dias e, no quarto dia, com uma dose de 20 mg/kg p.v. de oxitetraciclina em veículo oleoso³ por via intramuscular profunda.

Para a prova de imunofluorescência indireta foram coletadas amostras de sangue venoso dos animais para obtenção de soro antes da inoculação e 47 e 80 dias após a mesma. As amostras de soro foram estocadas a -18°C durante a premunicação para serem analisadas ao final da mesma. Os soros sofreram diluições múltiplas em solução salina tamponada (PBS, pH 7,2) a partir de 1:40.

Resultados

Dos 38 animais integrantes, 24 estavam prenhes e apenas 11 não mantiveram a sua condição corporal média talvez, pelo fato de terem abortado. Dos 11 abortamentos, quatro ocorreram no terço médio da gestação e sete no terço final. Além dos abortamentos acontecidos durante o experimento, outras patologias ocorreram com os animais como: hipertermias, patologias de casco, mastites, traumatismos e estresse.

Após a inoculação, apenas um animal apresentou *B. bigemina* (com um período prepatente de 17 dias), observada no esfregaço sanguíneo, assim como uma branda sintomatologia da infecção.

Durante o período compreendido entre a inoculação e o desafio, o período de incubação médio para *A. marginale* variou de 24 a 26 dias e o período prepatente individual foi mínimo de 21 e máximo de 32 dias. A parasitemia para *A. marginale*, no início do tratamento, foi mínima de 1% e máxima, de 15%. A média das parasitemias, no início do tratamento, foi de 5,5%. A parasitemia máxima para *A. marginale* foi de 25% em um animal, sendo que a média das máximas foi de 8,5%. Dos 38 animais, sete apresentaram recidiva de anaplasmose, sendo que o animal que apresentou a percen-

tagem máxima de parasitemia após a inoculação manifestou duas recidivas com 39 e 66 dias após a inoculação (DAI).

Após o desafio, 26 dos 38 animais apresentaram esfregaço positivo para *B. bigemina* e o período prepatente variou de oito a 26 dias após o desafio (DAD).

Apenas quatro animais apresentaram, após o desafio, *A. marginale* detectados nos esfregaços, em porcentagem máxima de 0,75%, não ocorrendo sintomatologia clínica ou necessidade de tratamento.

Os períodos prepatentes para *A. marginale*, o início dos tratamentos e os animais que apresentaram recidivas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Período prepatente para *Anaplasma marginale* e tratamento dos animais, submetidos ao processo de premunicação com inóculo.

Nº do animal	Período prepatente (DAI)	Início do tratamento (DAI)	DRPT*	Recidiva (DAI)
1	29	31	4	
2	29	31	8	
3	23	26	1	
4	25	27	7	
5	21	25	3	48
6	29	36	4	
7	25	27	3	
8	25	24	7	
9	25	27	1	
10	25	27	3	
11	21	26	2	
12	21	25	4	49
13	25	28	1	
14	21	25	4	
15	31	35	5	
16	31	32	1	52
17	25	26	1	
18	27	31	1	
19	23	26	6	
20	27	33	7	39 e 66
21	23	27	1	
22	26	27	4	41
23	22	26	5	
24	22	24	1	
25	24	27	5	
26	22	26	6	
27	22	25	6	
28	26	34	5	55
29	24	27	4	
30	24	27	1	
31	26	29	2	
32	26	27	6	
33	32	**	-	
34	26	30	7	
35	26	29	3	
36	22	26	1	47
37	22	26	1	
38	28	43	2	
Média	25	28,4	3,5	

* Dias para redução da parasitemia após início do tratamento. ** Animal não adoeceu.

¹ Ganaseg - Ciba Geigy Química S.A.

² Talcin Injetável - Ciba Geigy Química S.A.

³ Terramicina LA - Labs. Pfizer Ltda.

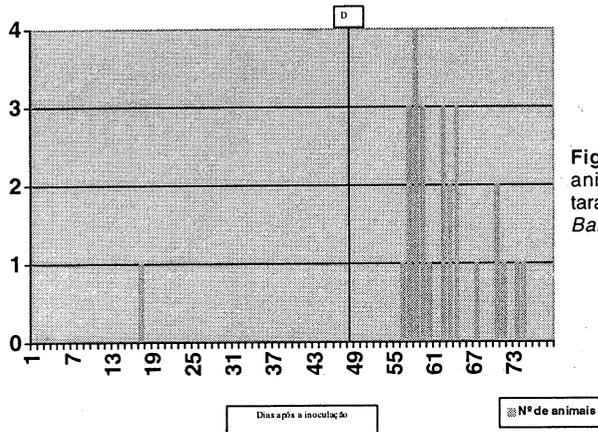


Figura 1: Número de animais que apresentaram parasitemia para *Babesia*.

Durante a premunição não foram identificadas *B. bovis* no esfregaço de sangue periférico. Apenas um animal apresentou esfregaço sanguíneo positivo para *B. bigemina* no 17º DAI. O número de animais e respectivos dias com esfregaços positivos para *B. bigemina* após o desafio, estão expressos na Figura 1. Os períodos prepatentes dos animais estão apresentados na Tabela 2.

Foram observados reticulócitos nos esfregaços sanguíneos de 28 dos 38 animais a partir do 31º até o 46º DAI. Apenas quatro animais apresentaram reticulócitos a partir do 9º até o 12º dia.

As médias das parasitemias para *A. marginale* estão expressas na Figura 2.

Tabela 2: Período pre-patente para Babesiose dos animais, submetidos ao desafio com sangue

Nº do animal	Período prepatente (DAD)
1	14
2	14
3	16
4	8
5	22
6	*
7	*
8	10
9	26
10	*
11	12
12	*
13	*
14	22
15	10
16	*
17	14
18	16
19	*
20	*
21	11
22	*
23	11
24	11
25	9
26	9
27	*
28	23
29	*
30	10
31	*
32	15
33	9
34	10
35	19
36	15
37	16
38	25
Média	14,5

* Animais não adoeceram.

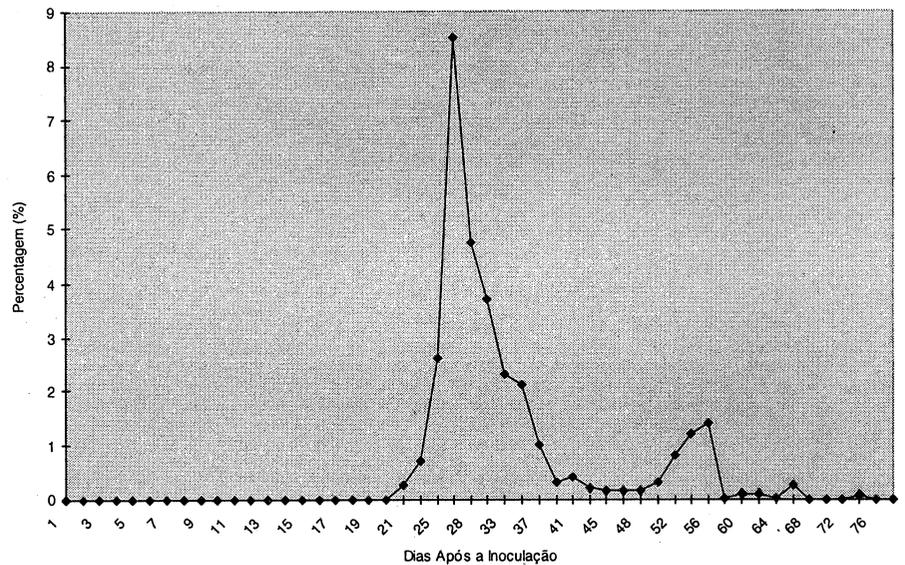


Figura 2: Média das parasitemias de *Anaplasma marginale*

A temperatura retal média dos animais foi mensurada durante cinco dias que precederam a inoculação e variou entre 38,65 e 38,95°C no período da manhã e de 39,44 a 40,01°C no período da tarde.

Entre o primeiro e o quinto DAI não ocorreram variações acima dos valores citados.

Do quinto ao 15º DAI, a temperatura variou de 38,70 a 39,76°C no período da manhã e 39,36 e 40,35°C no período da tarde.

Durante a fase de parasitemia do *A. Marginale*, que teve início no 21º DAI, a temperatura variou de 38,64 a 39,75°C no período da manhã e 38,91 a 40,70°C no período da tarde.

Após o desafio e durante a fase de parasitemia de *Babesia* sp., os animais apresentaram uma temperatura média que variou de 38,74 a 39,50°C no período da manhã e 39,10 a 40,18°C no período da tarde.

As médias das temperaturas retais estão expressas na Figura 3.

Antes da inoculação, o valor médio do V.G. era de 31,8%. Apenas a partir da fase parasitêmica de anaplasmose após a inoculação, estes valores apresentaram um decréscimo substancial, sendo que o percentual médio de redução foi de 37,4% e o valor mínimo ocorreu aproximadamente, 32 DAI.

O valor médio do V.G. dos 38 animais dois dias antes do desafio era de 23,4%. O valor médio mínimo do V.G., após o desafio, foi de 22,50% sendo que este valor ocorreu em média 9,3 DAD.

Tabela 3: Parasitemia para *Anaplasma marginale* dos animais, submetidos ao processo de premunicação com inóculo.

Nº do animal	Parasitemia (%)			Recidiva
	Início do tratamento	Máxima	Final do Tratamento	
1	2,5	3	2,5	
2	2,5	4	4	
3	3	10	10	
4	2	6	3	
5	12	20	15	2
6	2	4	0,25	
7	4	15	7	
8	1	5	5	
9	6	6	3	
10	2,5	3	1,5	
11	5	15	10	
12	10	15	15	2,5
13	2,5	3	1,5	
14	10	10	10	
15	3,5	12	10	
16	1	1	1	6
17	7	7	4	
18	8	8	4	
19	3,5	6	4	
20	5	25	8	25
21	15	15	12	
22	2,5	5,5	2,5	
23	10	13	13	2
24	3	3	2,5	
25	5	6	6	
26	8	8	7	
27	10	15	10	
28	4	12	12	
29	15	15	15	
30	12	12	4	
31	1,5	2	0,5	1,5
32	2,5	6	3,5	
33	*	1	*	
34	2,5	3,5	2,5	
35	2	3	1	
36	10	10	3	4,5
37	5	5	2,5	
38	5	9	7	
Média	5.5	8.5	5.9	

* Não houve tratamento.

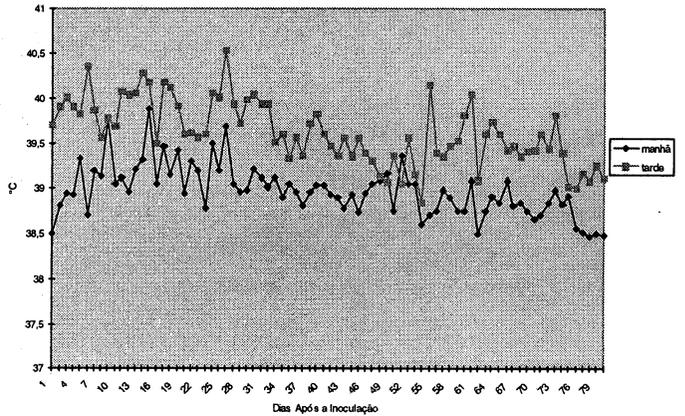


Figura 3: Variação média das temperaturas durante a premunicação .

A média do V.G. dos 38 animais está expressa na Figura 4. Os animais em fase anaplásmica foram tratados com uma parasitemia inicial mínima de 1% e máxima de 15%, com cloridrato de oxitetraciclina, e observou-se que o início da queda da parasitemia média foi de 3,5 dias (Tabela 1). Não houve mortalidade.

Tabela 4: Valores médios de volume globular e percentual médio de redução (PMR) dos animais, submetidos ao processo de premunicação por *Babesia bigemina*, *B. bovis* e *Anaplasma marginale*.

Nº de animais	Antes da inoculação	Após inoculação	
		Mínimo/DAI	PMR
38	31,4	19,8/31,9	37,4

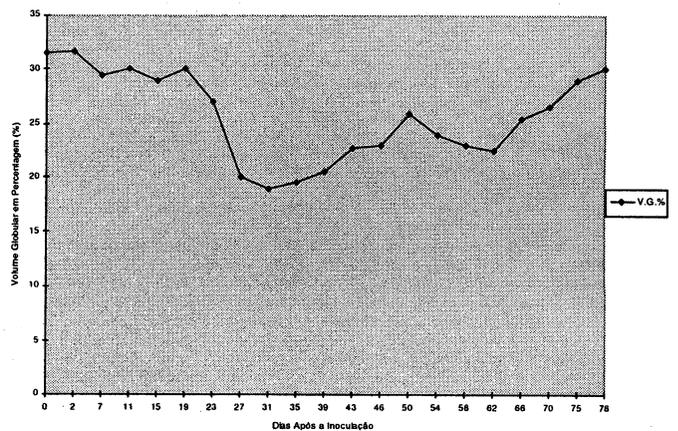


Figura 4: Média de volume globular.

Tabela 5: Valores médios de volume globular e percentual médio de redução (PMR) dos animais, submetidos ao desafio com sangue.

Nº de animais	Dois dias	Após desafio	
	antes do desafio	Mínimo/DAD	PMR
38	23,4	22,5/9,3	3,75

Todos os animais eram sorologicamente negativos para *A. marginale*, *B. bigemina* e *B. bovis* antes da inoculação, sendo que 47 dias após a mesma, todos os 38 animais (100%) apresentaram títulos para *A. marginale* que variaram de 1:320 a 1:2560. Entretanto, 14 animais (36,84%) ainda não tinham títulos de anticorpos para *B. bigemina* e sete (18,42%) para *B. bovis*. Em 21 animais (55,26%) os títulos para *B. bovis* e *B. bigemina* variaram de 1:40 a 1:320.

No exame realizado 80 DAI, todos os 38 animais (100%) apresentaram títulos positivos para *A. marginale*, 15 (39,47%) não apresentaram títulos para *B. bigemina* e *B. bovis* e 23 (60,53%) apresentaram títulos positivos que variaram de 1:40 a 1:320, sendo que durante todo o experimento apenas um animal não apresentou títulos positivos para *B. bovis* e *B. bigemina*.

Discussão e conclusões

Esse experimento foi realizado em um período de 80 dias, tempo inferior ao experimento de Brasil (1982) de 100 dias de duração, de Kohayagawa (1985), que durou 92 dias, e de Loss (1991) de aproximadamente 120 dias e, superior ao realizado por Bangel Junior et al. (1987), que durou 45 dias.

A utilização de amostras atenuadas de *B. bigemina* e *B. bovis* mostrou-se de grande valor na premunição, pois proporcionou um primeiro contato dos animais com esses protozoários, realizado com uma maior margem de segurança e com uma sintomatologia mais atenuada, em acordo com as observações de Gonzales et al. (1976), Mahoney (1977) citado por Kreier (1977) e Loss (1991). O inóculo com *A. marginale*, embora não fosse atenuado, proporcionou um período prepatente uniforme, proporcionando uma melhor programação das atividades de premunição, concordando com a citação de Loss (1991). A severidade dos sintomas de anaplasmoses, após a inoculação, pode ter sido influenciada pelo fato do inóculo não estar atenuado, em acordo com a explicação de Massard (1990).

O inóculo utilizado, assim como o acompanhamento clínico e laboratorial realizado a campo, mostraram compor um método mais técnico que necessita da presença constante do médico veterinário durante a premunição, em comparação com o que emprega o sangue fresco em animais a campo ou estabulados sem um controle tão efetivo como o método de Bangel Junior et al. (1987).

Além da alta temperatura ambiente, outro fator prejudicial foi a ocorrência de abortamentos em 47,8% dos animais gestantes, confirmando as citações de Emerson et al. (1974) e

Blood e Radostits (1991), o que poderia ter-se evitado se tivessem sido importadas fêmeas jovens que ainda não tivessem iniciado suas atividades reprodutivas ou não gestantes de acordo com Santos (1950).

Após a inoculação, foram observadas manifestações clínicas de intensidade bastante reduzida durante a fase de babesiose, sendo que dos 38 animais, apenas um apresentou resultado positivo no exame do esfregaço de sangue e, desta forma, os animais, embora fossem portadores de *Babesia* sp., ainda se encontravam em uma situação favorável para suportar o pico de anaplasmoses, pois não estavam convalescentes da babesiose, como citaram Corrêa e Corrêa (1992), não necessitando inocular o *A. marginale* antes da *Babesia* sp. como observou Santos (1950).

O período de incubação médio de 24 a 26 dias para *A. marginale* mostrou-se bastante uniforme e dentro do apresentado por Stephan e Squibel (1929), Brasil (1982), Kohayagawa (1985) e Loss (1991), e superior ao encontrado por Kreier et al. (1964), Todorovic (1975), Todorovic e Tellez (1975), Gonzales et al. (1976), Ajajl et al. (1978) e Otim et al. (1980).

A parasitemia média para *A. marginale* antes do tratamento, foi de 5,5%, sendo superior a parasitemia inicial dos experimentos de Pandey e Misha (1978), Kohayagawa (1985) e Loss (1991), o que ocasionou uma parasitemia máxima média de 8,5% também superior à encontrada por diversos autores como Hansard e Foot (1959), Kreier et al. (1964), Gonzales et al. (1976), Pandey e Misha (1978), Otim et al. (1980), Kohayagawa (1985) e Loss (1991).

Após o desafio, a variação do período de incubação de 8 a 26 dias para *B. bigemina* foi superior aos experimentos citados Stephan e Squibel (1929), Todorovic (1975), Mahoney (1977) e Kohayagawa (1985), e semelhante ao de Brasil (1982). Essa diferença se deve, provavelmente, ao fato de os animais, ao serem desafiados com sangue, já terem títulos variados de anticorpos contra *Babesia* sp.

Observando-se a Figura 3 podemos constatar um aumento da temperatura durante a fase de parasitemia de *Babesia* sp. juntamente com o aparecimento de um caso clínico com identificação de *B. bigemina* em esfregaço sangüíneo. No 11º dia, a elevação da temperatura ocorreu em níveis semelhantes aos relatados por Callow e Pepper (1974), Emerson et al. (1974) e Kohayagawa (1985).

Foi encontrada uma variação de temperatura mensurada no período da manhã inferior à encontrada no período da tarde. Resultados similares foram apresentados por Todorovic (1975), Kohayagawa (1985) e Loss (1991).

Na fase clínica de anaplasmoses, após a inoculação, foi observado um aumento da média de temperatura dos animais, inferior ao aumento citado na fase de anaplasmoses por Emerson et al. (1974) e Kohayagawa (1985).

Durante o desenvolvimento do trabalho, observou-se que a temperatura não deve ser utilizada isoladamente como parâmetro para início do tratamento, já que nem sempre as elevações de temperatura foram acompanhadas de parasitemia por *Babesia* sp. ou *A. marginale*. Observações similares foram feitas por Loss (1991).

Após o desafio, 26 animais apresentaram sintomatologia de babesiose acompanhada de esfregaço positivo para *B. bigemina* e que provocou uma terceira elevação na temperatura média como podemos observar na Figura 3. Esses valores referentes à temperatura foram semelhantes aos citados por Callow e Pepper (1974), Emerson et al. (1974) e Kohayagawa (1985).

Após a inoculação, durante o período de incubação da babesiose, não houve uma redução acentuada do V.G., certamente devido à atenuação das cepas utilizadas no inóculo, não ocorrendo reações tão severas como as relatadas por Todorovic (1975), Todorovic e Telez (1975), Gonzales et al. (1976), Mahoney (1977) citado por Kreier (1977) e Kohayagawa (1985).

Com o início da fase parasitêmica da anaplasmosose ocorreu um decréscimo, com um percentual médio de redução da ordem de 37,4% semelhante ao apresentado por Hansard e Foote (1959), e superior aos encontrados por Jatkar e Kreier (1964), Gonzales et al. (1976), Ajayl et al. (1978), Otím et al. (1980) e Loss (1991), o que provavelmente foi resultado da alta média de parasitemia no início do tratamento.

Após o desafio, com o início da fase parasitêmica de babesiose, o percentual de redução do V.G. foi inferior ao apresentado por Todorovic e Tellez (1975), Gonzales et al. (1976) e Kohayagawa (1985), provavelmente porque nesse período os animais já haviam tido contato com o antígeno após a inoculação e, conseqüentemente, apresentavam já alguma imunidade para *Babesia* sp. Durante a fase de anaplasmosose, após o desafio não houve redução do V.G. por

não haver parasitemia por *A. marginale*, diferindo dos resultados encontrados por Loss (1991).

A prova de imunofluorescência indireta (IFA) se mostrou eficiente na comprovação de anticorpos contra *B. bigemina*, *B. bovis* e *A. marginale* em acordo com Ross e Lohr (1968) e Estrada Peña (1984).

Assim sendo, verificou-se que os inóculos para *B. bigemina* e *B. bovis* mostraram-se eficientes na indução da infecção e da imunidade nos animais inoculados, além de apresentarem uma baixa patogenicidade, sendo uma boa opção para premunicação.

Da mesma forma, o inóculo para *A. marginale* foi eficiente na indução da imunidade, porém ainda requer um acompanhamento clínico intenso dos animais inoculados devido à sua patogenicidade.

Já o acompanhamento do volume globular e da percentagem de parasitemia são fundamentais para realização de uma premunicação segura e eficiente.

Com relação ao tratamento da babesiose durante a premunicação, ele deve ser iniciado logo que se constate *B. bigemina* no esfregaço sangüíneo, acompanhado de outros sintomas como aumento da temperatura e queda do volume globular. Entretanto, o tratamento da anaplasmosose deve ser iniciado a partir do momento em que a percentagem de hemácias parasitadas ultrapasse 1%, a fim de se evitar mortalidade.

Finalmente, concluiu-se que na maioria dos casos, a parasitemia por *A. marginale* pode aumentar, mesmo após iniciado o tratamento com oxitetraciclina, diminuindo em média dois a quatro dias após.

Referências bibliográficas

- AJAYL, S.A.; WILSON, A.J.; CAMPBELL, R.S.F. Experimental bovine anaplasmosis: clinico-pathological and nutritional studies. *Res. Vet. Sci.*, v. 25, p. 76-81, 1978.
- BANGEL JUNIOR., J.J.; SCHEFFER, A.L.; DIAS, M.M. Premunicação de bovinos segura e sem perdas. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v. 15, p. 5-9, 1987.
- BLOOD, D.C., RADOSTITS, O.M. *Clínica Veterinária*. 7 ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan, 1991, 1.263 p.
- BRASIL, A.G. Premunicação contra a tristeza parasitária em bovinos a campo. *A Hora Vet.*, v. 2, n. 10, p. 4-8, 1982.
- CALLOW, L.L. & PEPPER, P.M. Measurement of and correlations between fever, changes in the packed cell volume and parasitaemia in the evaluation of the susceptibility of cattle to infection with *Babesia argentina*. *Aust. Vet. J.*, v. 50, n. 1, p. 1-5, 1974.
- CORRÊA, W.M., CORRÊA, C.N.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2. ed. Rio de Janeiro: Ed. Medsi, 1992, 843 p.
- EMERSON, F.R.; KNOTT, S.G.; MCGREGOR, W. Tick fevers – and how to prevent them. *Queensland Agr. J.*, v. 100, n. 9, p. 405-416, 1974.
- ESTRADA PEÑA, A. Babesiosis: diagnóstico, tratamiento, inmunización y epizootiología. *Med. Vet.*, v. 1, n. 2, p. 7-16, 1984.
- GONZÁLES, E.F.; TODOROVIC, R.A.; THOMPSON, K.C. Immunization against anaplasmosis and babesiosis: Part I. Evaluation of immunization using minimum infective doses under laboratory conditions. *Tropenmed. Parasit.*, v. 27, n. 3, p. 427-437, 1976.
- HANSARD, S.L., FOOTE, L.E. Anemia of induced anaplasmosis in the calf. *Am. J. Physiol.*, v. 197, n. 1, p. 711-716, 1959.
- JATKAR, P.R., KREIER, J.P. Pathogenesis of anemia in anaplasma infection. *Indian Vet. J.*, v. 44, n. 5, p. 393-399, 1964.
- KOHAYAGAWA, A. *Estudo clínico e laboratorial do desenvolvimento da premunicação contra Babesia e Anaplasma em bovinos (Bos taurus) da raça Fleckview*. 1985, 117p. Tese (Doutorado) – Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista.
- KREIER, J.P.; RISTIC, M.; SCHROEDER, W. Anaplasmosis. XVI. The pathogenesis of anemia produced by infection with anaplasma. *Am. J. Vet. Res.*, v. 25, n. 1, p. 343-352, 1964.
- KREIER, J.P. ed. *Parasitic Protozoa*. v. 4, New York: Academic Press, 1977. 221 p.
- LOSS, A.C.S. *Avaliação do curso da infecção e da resposta humoral para Anaplasma marginale (Theiler, 1910) em bovinos submetidos ao processo de premunicação*. 1991, 67 p. Tese (Mestrado) – Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais.
- MASSARD, C.L. Sanidade animal: tristeza parasitária dos bovinos. *A Hora Vet.*, n. 54, p.10-13, 1990.
- OTIM, C.; WILSON, A.J.; CAMPBELL, R.S.F. A comparative study of experimental anaplasmosis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Aust. Vet. J.*, v. 56, p. 262-266, 1980.
- PANDEY, N.N., MISHA, S.S. Studies on the clinical symptoms and percentage of parasitaemia in experimental *Babesia bigemina* infection in cow calves. *Indian Vet. J.*, v. 55, p. 139-143, 1978.
- ROSS, J.P.J., LOHR, K.F. Serologic diagnosis of *Babesia bigemina* infection in cattle by the indirect fluorescent antibody test. *Res. Vet. Sci.*, n. 1, v. 9, p. 557-562, 1968.

SANTOS, J.A. *Normas práticas para a premunição de bovinos contra a tristeza parasitária (piro e anaplasnose)*. Instituto de Biologia Animal, 1950, 10 p.

STEPHAN, O., SQUIBEL, A. Método de premunição contra a tristeza, usado no Posto Zootécnico de São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 183-208, 1929.

TODOROVIC, R.A. Serological diagnosis of babesiosis: A Review. *Trop. Anim. Health and Prod.*, v. 7, n. 1, p. 1-14, 1975.

TODOROVIC, R.A., TELLEZ, C.H. The premunition of adult cattle against babesiosis and anaplasmosis in Colombia, South America. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, v. 7, n. 1, p. 125-131, 1975.



**HEXÁGONO QUÍMICA E EQUIPAMENTOS
PARA LABORATÓRIOS LTDA.**

(Distribuidor MERCK, VWR, WTW, BRAND)

RUA DAS OFICINAS, 167 - ENGENHO DE DENTRO - CEP 20770-010

FAX: (21) 595-6055 - PABX: (21) 597-1231