

NÍVEIS DE ANTICORPOS ANTI-BABESIA BIGEMINA E BABESIA BOVIS, EM BEZERROS DA RAÇA NELORE, IBAGÉ E CRUZAMENTOS DE NELORE¹

CLAUDIO ROBERTO MADRUGA², EDUARDO AYCARDI³, RAUL HENRIQUE KESSLER⁴,
MARIA APARECIDA MOREIRA SCHENK², GERALDO RAMOS DE FIGUEIREDO
e JOÃO BAPTISTA ESMELA CURVO⁵

RESUMO - Foram analisados pela técnica de anticorpos fluorescentes, os soros dos bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos de Nelore x Fleckvieh, Nelore x Chianina e Nelore x Charolés, do nascimento ao desmame, com a finalidade de determinar os níveis de imunoglobulinas anti-*Babesia bigemina* e *Babesia bovis*. No período de três a quatorze dias de vida, foi observada correlação positiva e significante entre os níveis de imunoglobulinas circulantes das vacas e os anticorpos séricos dos bezerros contra *B. bigemina* e/ou *B. bovis*, em algumas raças e cruzamentos. A média do título sorológico dos grupos experimentais apresentou um decréscimo nos níveis de anticorpos colostrais entre 28 e 56 dias de idade contra *B. bigemina* e entre 56 e 84 dias anti-*B. bovis*. A produção ativa de anticorpos contra *B. bigemina* foi observada aos 84 dias e aos 112 contra *B. bovis*. Em geral, os níveis de anticorpos anti-*B. bigemina* foram mais elevados que o da *B. bovis* e houve maior semelhança na curva de anticorpos dos bezerros da raça Nelore e seus cruzamentos que os da raça Ibagé. Embora a região seja considerada área de estabilidade enzoótica, conclui-se que existe um período crítico de baixa resistência humoral, no qual podem ocorrer casos clínicos de babesiose.

Termos para indexação: bovinos, babesiose.

ANTIBODY LEVELS ANTI - BABESIA BIGEMINA AND BABESIA BOVIS IN CALVES OF NELORE AND IBAGÉ BREEDS AND NELORE CROSSES

ABSTRACT - Antibody levels of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* were analysed by the indirect fluorescent antibody technique in calves of Nelore and Ibagé breeds, Nelore x Fleckvieh and Nelore x Chianina, and Nelore x Charolais cross up to weaning age. Three and 14 day-old calves of some breeds and crosses showed significant positive correlation with the immunoglobulins anti-*B. bigemina* and/or *B. bovis* of the cows. Lower levels of immunoglobulins against *B. bigemina* were found between 28 and 56 days of age and against *B. bovis* between 56 and 84 days of age. The active antibody production was observed against *B. bigemina* at 84 days and at 112 days of age against *B. bovis*. The antibody level anti-*B. bigemina* was generally higher than anti-*B. bovis* and the antibody curve was more similar to Nelore breed and its calf crosses than to the Ibagé breed. Although the region is considered to be enzootically stable, it was concluded that there is a critical time of low humoral resistance during which the clinical symptoms of babesiosis can occur.

Index terms: bovine, babesiosis

INTRODUÇÃO

Existe um conceito de que os bezerros jovens são naturalmente mais resistentes à babesiose e que nestes animais se evidenciam apenas sinais subclínicos da infecção. Outros fatores além da imunidade humoral têm sido responsabilizados por esta resistência.

As características bioquímicas dos eritrócitos

e atividade eritrofagocitária do baço dos animais jovens dificultam o desenvolvimento de hemoparasitos (Riek 1963). Mais recentemente, foi observada a presença de um fator no soro de bovinos jovens que provoca a inibição da multiplicação ou a morte da babesia no interior dos eritrócitos (Levy et al. 1982). Entretanto, esta maior resistência não foi verificada em experimentos que compararam as reações clínicas de animais adultos e bezerros, quando infectados por *B. bigemina* (Lohr 1972) e por *B. divergens* (Brocklesby et al. 1971).

Bezerros com baixo nível de anticorpos ou sem anticorpos colostrais foram inteiramente susceptíveis à babesiose (Hall 1960), enquanto que animais oriundos de vacas imunes adquiriram uma imunidade passiva capaz de proteger contra esta infecção (Hall et al. 1968).

¹ Aceito para publicação em 15 de junho de 1984

² Méd. - Vet., M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC), Caixa Postal 154, CEP 79100 Campo Grande, MS.

³ Méd. - Vet., Ph.D., Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Apartado Aéreo 6713, Cali, Colômbia.

⁴ Méd. - Vet., Ph.D., EMBRAPA/CNPGC.

⁵ Eng. - Agr., M.Sc. EMBRAPA/CNPGC.

Em áreas enzoóticas, onde as vacas são constantemente infectadas, presume-se que os bezerros adquirem, através do colostro, anticorpos suficientes para prevenir a babesiose e que esta imunidade passiva é substituída por uma imunidade ativa. Entretanto, estudos epidemiológicos realizados em áreas enzoóticas da Austrália evidenciaram que animais com idade inferior a nove meses não são completamente resistentes e podem morrer em consequência de babesiose (Rogers 1971).

No Brasil, em regiões consideradas enzoóticas, as infecções por *B. bovis* e *B. bigemina* são reconhecidas como importante causa de doenças de bezerros (Valente & Amaral 1971a e b, Leite & Lima 1982, Kessler et al. 1983).

O propósito deste trabalho é determinar o nível de anticorpos anti-*B. bovis* e *B. bigemina* em bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos Nelore x Fleckvieh, Charolês e Chianina, do nascimento ao desmame, faixa etária em que é detectada a maior incidência de tristeza parasitária, em Campo Grande, MS.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na região de Campo Grande, no Estado de Mato Grosso do Sul, situada entre paralelos 17 e 24°S e entre os meridianos 51 e 58°N. A altitude varia de 300 a 800 m acima do nível do mar. As condições climáticas são tipicamente tropicais com precipitações pluviométricas concentradas no período de outubro a março e temperatura média anual entre 20 e 25°C.

Durante o período experimental, os bezerros foram mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens* e *Hyparrhenia rufa*, numa lotação de uma unidade animal por hectare.

Animais experimentais

Os grupos experimentais foram compostos por animais da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos Nelore x Fleckvieh, Nelore x Chianina e Nelore x Charolês. Cada um destes grupos foi composto por dez bezerros, que foram acompanhados do nascimento ao desmame.

Colheita de sangue

Foram colhidas amostras de sangue das vacas e dos bezerros, 72 horas após o parto, seguindo-se a colheita apenas dos bezerros, aos 14 e 28 dias de vida, e, após, mensalmente, durante o período de 224 dias.

O sangue colhido da veia jugular, após a coagulação em temperatura ambiente, foi centrifugado a 3.000 rpm por 15 minutos para separação do soro, o qual foi estocado a -20°C para posterior pesquisa de anticorpos.

Exames sorológicos

O teste de imunofluorescência indireta, segundo técnica de Leeflang & Perié (1972), foi empregado para diagnóstico de anticorpos contra *B. bovis* e *B. bigemina*, utilizando-se como controles soro negativo, positivo e o tampão fosfato pH 7,2.

O conjugado⁶ foi utilizado na diluição de 1:80 e os soros a partir da diluição 1:40.

Análise estatística

Foi realizado um estudo de correlação entre anticorpos anti-*B. bigemina* e anti-*B. bovis* das vacas e as imunoglobulinas séricas dos bezerros aos três e quatorze dias de vida.

RESULTADOS

Anticorpos específicos contra *B. bigemina* e *B. bovis* foram observados em 93% e 80% das vacas, respectivamente.

A correlação entre níveis de imunoglobulinas circulantes das vacas e os anticorpos séricos dos bezerros, adquiridos através do colostro aos três e quatorze dias, pode ser observada na Tabela 1.

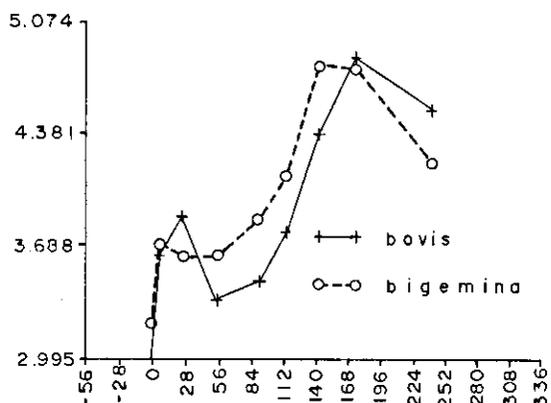
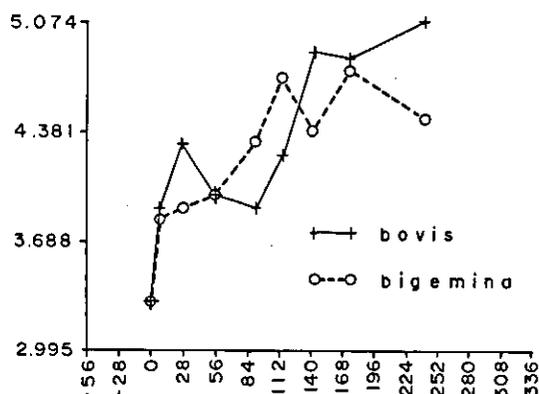
As correlações entre níveis de anticorpos anti-*B. bovis* e *B. bigemina* na vaca e no bezerro, aos quatorze dias de vida, foram positivas e significantes ($P < 0,01$), na raça Nelore. Nos animais da raça Ibagé, houve correlação positiva significativa ($P < 0,05$) entre os níveis de imunoglobulina anti-*B. bovis* na vaca e no bezerro, aos três dias de vida. Nos cruzamentos Nelore x Fleckvieh e Nelore x Charolês, foram observadas correlações significantes ($P < 0,05$) e ($P < 0,01$), respectivamente, entre os níveis de anticorpos contra *B. bovis* na vaca e no bezerro, aos quatorze dias de vida. As demais análises não demonstraram correlações significativas.

Na raça Nelore e cruzamentos Nelore x Chianina, Nelore x Fleckvieh, Nelore x Charolês, o nível mais alto de anticorpos anti-*B. bigemina* de origem colostrar foi aos quatorze dias (Fig. 1, 3, 4 e 5), enquanto que os mais baixos foram aos 28 dias, para os bezerros da raça Nelore, e meio-sangue Nelore x Chianina e Nelore x Fleckvieh (Fig. 1, 3 e 4). O cruzamento Nelore x Charolês apresentou o nível mais baixo aos 84 dias. Na raça Ibagé, os níveis de anticorpos continuaram a subir sem demonstrar

⁶ Grand Island Biological Co (GIBCO) Grand Island, N.Y., U.S.A.

TABELA 1. Correlação entre níveis de anticorpos das vacas e as imunoglobulinas circulantes dos bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos de Nelore.

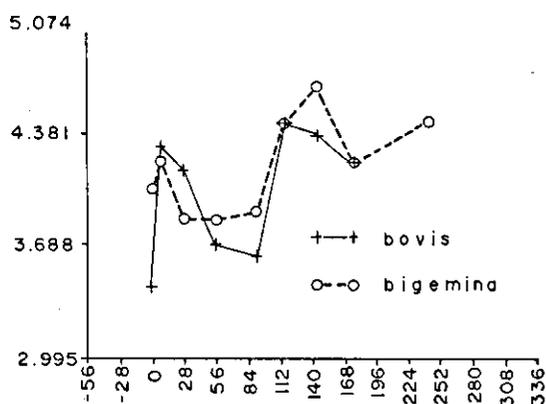
Raça ou cruzamento	Idade			
	3 dias		14 dias	
	<i>B. bovis</i>	<i>B. bigemina</i>	<i>B. bovis</i>	<i>B. bigemina</i>
Nelore	0,0000	0,1899	0,9097	0,9441
Ibagé	0,7100	0,4082	-0,1466	0,2333
Nelore x Chianina	0,0000	0,4120	0,0000	0,5163
Nelore x Fleckvieh	0,3001	0,4432	0,6760	0,0989
Nelore x Charolês	0,1083	0,5757	0,8822	0,5174

FIG. 1. Título de anticorpos no soro de bezerros da raça Nelore no teste de imunofluorescência indireta para *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*.FIG. 2. Título de anticorpos no soro de bezerros da raça Ibagé no teste de imunofluorescência para *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*.

solução de continuidade entre as curvas de anticorpos colostrais e os produzidos pelo sistema imunitário dos bezerros desta raça (Fig. 2).

Com relação a *B. bovis*, os cruzamentos Nelore x Chianina, Nelore x Fleckvieh e Nelore x Charolês tiveram os níveis mais altos de anticorpos colostrais, aos quatorze dias (Fig. 3, 4 e 5), enquanto as raças Nelore e Ibagé, aos 28 dias (Fig. 1 e 2). Os níveis mais baixos das imunoglobulinas adquiridas passivamente antes do início da produção autóloga de anticorpos, foram verificados, aos 56 dias, nos bezerros Nelore e Nelore x Fleckvieh (Fig. 1 e 4), e aos 84 dias, nos animais Ibagé, Nelore x Chianina e Nelore x Charolês (Fig. 2, 3 e 5).

Após a queda inicial dos níveis de anticorpos de origem colostrais, iniciou-se o crescimento da curva

FIG. 3. Título de anticorpos anti *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bezerros do cruzamento Nelore x Chianina.

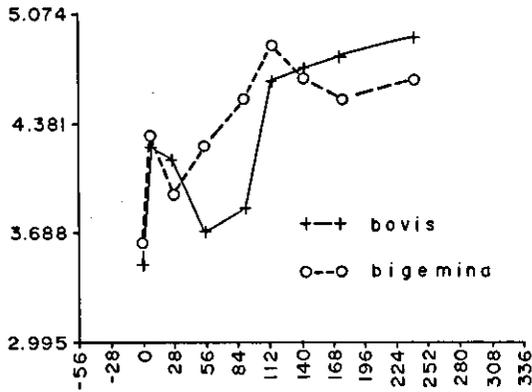


FIG. 4. Título de anticorpos anti *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bezerras do cruzamento Nelore x Fleckvieh.

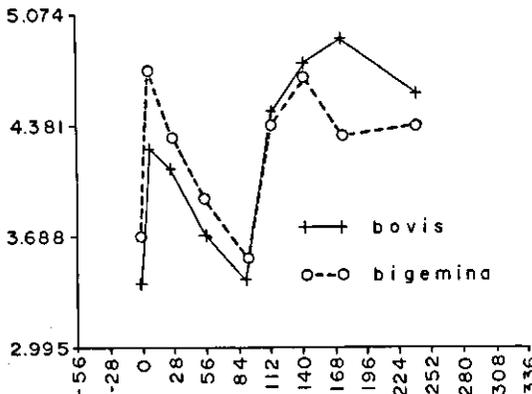


FIG. 5. Título de anticorpos anti *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bezerras do cruzamento Nelore x Charolês.

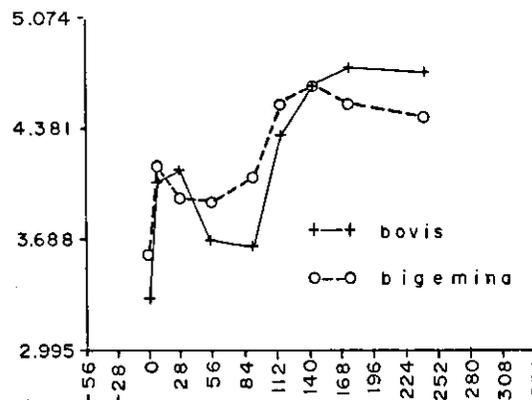


FIG. 6. Média do título sorológico de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* nos cinco grupos experimentais.

de anticorpos naturais anti-*Babesia* em todas as raças, com exceção de Ibagé na qual a curva de anticorpos *B. bigemina* foi crescente, até os 120 dias, quando atingiu seu título máximo. Considerando a média do nível de anticorpos em todos os grupos experimentais, foi observado que, após o decréscimo dos anticorpos colostrais, as imunoglobulinas séricas iniciaram um novo pique, a partir dos 56 dias, contra *B. bigemina*, e 84 dias, contra *B. bovis* (Fig. 6). Todos os animais eram positivos ao final do experimento.

DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que houve transmissão de anticorpos colostrais aos bezerras, entretanto, em geral, sem uma correlação entre os níveis de imunoglobulinas séricas das vacas e os anticorpos colostrais dos bezerras. Isto ocorreu porque os títulos de anticorpos contra *B. bigemina* e *B. bovis* foram maiores nos bezerras que nas vacas, principalmente aos quatorze dias de idade. Fenômeno similar foi verificado por Ross & Löhner (1970), com relação à transmissão de anticorpos colostrais contra *B. bigemina*.

A elevação do nível de anticorpos contra *B. bigemina* geralmente antecedeu o da *B. bovis*; isto, provavelmente, foi devido à maior taxa de inoculação de *B. bigemina* pelo *Boophilus microplus* (Mahoney 1967), em consequência da maior infectividade de *B. bigemina* para este ixodídeo (Mahoney & Mirre 1971). Também o decréscimo dos anticorpos colostrais contra *B. bigemina* antes dos 28 dias de idade, possivelmente, tenha alcançado níveis que não têm ação neutralizadora diante do inóculo de *B. bigemina*, pois existem constatações de que os anticorpos colostrais podem interferir com o desenvolvimento de imunidade ativa (Danieli 1980).

O pique no nível de anticorpos contra *B. bovis*, verificado aos quatorze dias, e o decréscimo, a partir dos 28 dias de idade, estão parcialmente de acordo com as observações realizadas por Berry et al. (1981), na região de Santa Cruz, Bolívia.

A queda nos níveis de anticorpos, entre 28 e 56 dias, para *B. bigemina*, e de 56 a 84 dias, para *B. bovis* ocorreu, provavelmente, em função da ação

neutralizadora dos anticorpos colostrais aos hemoparasitos, bloqueando, desta forma, o contato destes com o sistema imunológico dos bezerros. A hipótese seria de que os níveis de anticorpos se mantivessem com títulos idênticos ou maiores do que os transmitidos pelo colostro, visto que os bezerros recém-nascidos já possuem plena competência imunológica (Schultz 1973) e há uma constante inoculação de *B. bigemina* e *B. bovis*, em virtude de os animais crescerem em área endêmica. Apesar de existirem trabalhos que demonstram a existência de fatores de resistência natural à babesiose, independente da imunidade humoral (Riek 1963, Levi et al. 1982), esta última tem um papel importante no sistema de proteção do bezerro contra estas hemoparasitoses. Bezerros que absorvem pouca ou nenhuma quantidade de anticorpos colostrais são muito susceptíveis à infecção por *B. bigemina* (Hall 1960 e 1968). Outra constatação que evidencia a importância das imunoglobulinas séricas foi realizada por Brocklesby et al. (1971), que verificaram que animais de dois meses de idade, nascidos de vacas não-imunes, tiveram o mesmo grau de susceptibilidade que os adultos.

A incidência de babesiose em bezerros, verificada em áreas enzoóticas (Rogers 1971, Valente & Amaral 1971a e b, Leite & Lima 1982, Kessler et al. 1983) possivelmente está associada à depressão nos níveis de anticorpos verificada entre 28 e 84 dias de idade.

CONCLUSÕES

Embora a região seja caracterizada área de estabilidade enzoótica conclui-se que há um período crítico de baixa resistência humoral, entre 28 a 56 dias para *B. bigemina* e de 84 a 112 dias para *B. bovis*, no qual pode ocorrer casos clínicos de babesiose.

Nenhuma conclusão pode ser obtida quanto ao grau de susceptibilidade ou resistência das raças e cruzamentos em função da curva de anticorpos.

Entretanto, a maior semelhança dos títulos de anticorpos do Nelore e seus cruzamentos deve-se, provavelmente, à maior resistência destes ao vetor da *Babesia*, o carrapato *Boophilus microplus*, do que à resistência dos animais da raça Ibagé.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração do Dr. Ronald Smith, professor associado do Departamento de Patobiologia Veterinária da Universidade de Illinois, USA, e consultor científico da EMBRAPA.

REFERÊNCIAS

- BERRY, S.; IBATA, G. & EDWARDS, S. Antibody formation to *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in calves in Bolivia. *Trop. Anim. Hlth.*, 13: 240, 1981.
- BROCKLESBY, D.W.; HARNESS, E. & SELLWOOD, S.A. The effect of age on natural immunity of cattle to *Babesia divergens*. *Res. Vet. Sci.*, 12: 15-7, 1971.
- DANIELI, I. Response of calves to *Babesia bigemina* vaccine after passive immunization by ingestion of colostrum. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DISEASES OF CATTLE, 11, Tel Aviv, 1980. Reports and Summaries. Haila, Israel Association for Buiatrics, 1980, p.673-5.
- HALL, W.T.K. The immunity of calves to *Babesia argentina* infection. *Aust. Vet. J.*, 36(9):361-6, 1960.
- HALL, W.T.K.; TAMMEMAGI, L. & JOHNSTON, L.A.Y. Bovine babesiosis: The immunity of calves to *Babesia bigemina* infection. *Aust. Vet. J.*, 44: 259-64, 1968.
- KESSLER, R.H.; MADRUGA, C.R.; SCHENK, M.A.M. & RIBEIRO, O.C. Babesiose cerebral por *Babesia bovis* (Babes 1888, Starcovici 1893) em bezerros no Estado do Mato Grosso do Sul. *Pesq. agropec. bras.*, 18(8):931-5, 1983.
- LEEFLANG, P. & PERIÉ, N.N. Comparative immunofluorescent studies on 4 *Babesia* species of cattle. *Res. Vet. Sci.*, 13: 342-6, 1972.
- LEITE, R.C. & LIMA, J.D. Fatores sanitários que influenciam nas criações de bezerros. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. M. Gerais*, 34(3):485-92, 1982.
- LEVY, M.G.; CLABAUGH, G. & RISTIC, M. Age resistance in bovine babesiosis: role of blood factors in resistance to *Babesia bovis*. *Infect. Immun.*, 37(3):1127-31, 1982.
- LÖHR, K.F. Immunity to *Babesia bigemina* in experimentally infected cattle. *J. Protozool.*, 19(4): 658-60, 1972.
- MAHONEY, D.F. Bovine babesiose: preparation and assessment of complement fixing antigens. *Exp. Parasitol.*, 20: 232-41, 1967.
- MAHONEY, D.F. & MIRRE, G.B. Bovine babesiosis: Estimation of infection rates in the vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 65(3):309-17, 1971.
- RIEK, R.F. Piroplasms immunity to protozoa. In: GARNHAM, A.E. ed. *Immunity to protozoa*. Oxford, Blackwell, 1963. p.160-79.

- ROGERS, R.T. An evaluation of tick fever outbreaks in northern Queensland in recent years. *Aust. Vet. J.*, 47:415-17, 1971.
- ROSS, J.P. & LÖHR, K.F. Transmission and persistence of colostral antibodies to *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale*. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 21: 401-11, 1970.
- SCHULTS, R.D. The ontogeny of the immune system in the bovine. *Cornell Vet.*, 63:507-35, 1973.
- VALENTE, F.A.T. & AMARAL, L.B. Ocorrência de moléstia nos rebanhos bovinos do Estado de São Paulo no triênio 1965/67. XI. Piroplasmose e anaplasmosse nas regiões de Presidente Prudente, Araçatuba e São José do Rio Preto, SP. *O Biológico*, São Paulo, 37(5):119-25, 1971b.
- VALENTE, F.A.T. & AMARAL, L.B. Ocorrência de moléstia nos rebanhos bovinos do Estado de São Paulo no triênio 1965-1967. V. Piroplasmose e anaplasmosse na região de São Paulo, Sorocaba, Bauru, SP. *O Biológico*, São Paulo, 37(4): 84-90, 1971a.