

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE *BABESIA BOVIS*, *BABESIA BIGEMINA* E *ANAPLASMA MARGINALE* EM *DIDELPHIS MARSUPIALIS* ESPLENECTOMIZADOS¹

MARIA DAS GRAÇAS DE SOUZA PAIVA², EUNICE LEONORA CHAPLIN³, NEUSA SALTIEL STOBBE²,
FLÁVIO ANTÔNIO PACHECO DE ARAÚJO e NILTON ROGÉRIO SANTOS SILVA³

RESUMO - O comportamento do gambá (*Didelphis marsupialis*) foi satisfatório como animal de laboratório, e mostrou-se susceptível aos agentes da tristeza parasitária bovina ao ser infectado subcutaneamente com sangue fresco de bovino parasitado com 0,037% de *Babesia bovis* e 19% de *Anaplasma marginale*. A sintomatologia observada restringiu-se à anemia e à hipertermia. Verificou-se intermitência de temperatura e parasitemia, do 10º ao 45º dia da inoculação.

Termos para indexação: babesiose, anaplasmosose, gambá.

EXPERIMENTAL INFECTION OF SPLENECTOMIZED *DIDELPHIS MARSUPIALIS* WITH *BABESIA BOVIS*, *BABESIA BIGEMINA* AND *ANAPLASMA MARGINALE*

ABSTRACT - The opossum (*Didelphis marsupialis*) behavior was satisfactory at the laboratory conditions. The animals were susceptible to the agents of cattle tick fever disease. They were infected subcutaneously with fresh blood of cattle parasitized with 0,037% of *Babesia bovis* and 19% of *Anaplasma marginale*. The clinical symptoms observed were limited to the anemia and the increase of temperature. The parasitaemia and increase of temperature were intermittent from 10th to 45th days after the inoculation.

Index terms: babesiosis, anaplasmosis, opossum.

INTRODUÇÃO

A preferência pelo gambá (*Didelphis marsupialis*) para pesquisas laboratoriais deve-se ao fato de se tratar de uma espécie animal de fácil manuseio e de exteriorização fetal, permitindo estudo em áreas como toxicologia, teratologia, embriologia, etologia e imunologia (Wallach & Bover 1983).

Estudando o gambá como modelo para perspectivas de pesquisa, economia e técnicas de laboratório, Jurgelski Junior (1974) relata que este animal oferece vantagens em relação a outros marsupiais e a outros mamíferos, como animal de laboratório, tais como:

– em estrutura, função e adaptação, é o único marsupial de vida mais primitiva e inferior,

e entre os mamíferos mais primitivos registra avançados estudos comparativos em laboratórios;

– a gestação de 13 dias e ± 6 horas está entre as menores gestações, não apenas entre marsupiais, mas também entre os mamíferos em geral;

– a placenta está entre as formas mais primitivas dos mamíferos;

– a fêmea tem uma bolsa marsupial desenvolvida, onde os filhotes completam o desenvolvimento pós-partum;

– o número de filhotes por parição é grande, atingindo 7,5 filhotes por ninhada, tanto em animais selvagens como em animais em cativeiro;

– o gambá é uma espécie de mamífero encontrada na maior parte do hemisfério ocidental.

Jurgelski Junior et al. (1974) acreditam que o maior motivo para a desistência da exploração laboratorial do gambá (*Didelphis virginiana* Kerr) tem sido a baixa reprodução, mesmo obtendo reprodução experimental além

¹ Aceito para publicação em 25 de setembro de 1991
Financiado pelo CNPq.

² Em curso de Mestrado. Univ. Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)/Fac. de Vet., CEP 90000 Porto Alegre, RS. Bolsista do CNPq.

³ Méd. - Vet., Prof., UFRGS/Fac. de Veterinária. Porto Alegre, RS.

da terceira geração, com animais em gaiolas que permitiam livre percurso no seu interior e localizadas em grandes cercados com vegetação natural, com especial atenção à higiene dos animais. Para Jurgelski Junior (1974), o maior problema do *Didelphis marsupialis* em cativeiro é a endocardite bacteriana, decorrente da contaminação por lesões provenientes das brigas entre os animais mantidos em condições sanitárias inadequadas.

Lewis & William (1979) acreditam que as doenças de bovinos causadas por piroplasmas constituem um dos maiores obstáculos para o crescimento do rebanho industrial nos trópicos. A *Babesia divergens*, comum na Europa, pode ser transmitida por caprinos, ovinos e cervídeos esplenectomizados, através da inoculação de sangue de bovino infectado. Os autores conseguiram adaptar a *B. divergens* em camundongos africanos (*Meriones unguiculatus*) utilizando terneiros esplenectomizados como desafio.

Adam et al. (1989) propagaram a *B. divergens* em mais de 50 camundongos africanos, através de contínuas passagens intraperitoneais, durante oito meses. Para os autores, o *Meriones unguiculatus* é o hospedeiro mais apropriado de *B. divergens* em condições de laboratório, não sendo necessário a esplenectomia para o desenvolvimento da infecção.

Para Marchette et al. (1982), citado por Zaugg & Newman (1985), a anaplasmose bovina é considerada como o segundo mais importante problema da doença, ocorrendo em todo o mundo. Apesar da sua importância e distribuição, o hospedeiro não-ruminante não tem sido identificado, o que intensifica os estudos epizooticos da anaplasmose, utilizando-se pequenos animais para pesquisas experimentais.

No Brasil, os trabalhos existentes em relação à tristeza parasitária bovina são poucos, e todos envolvendo animais bovinos. Paiva et al. (1991) conseguiram produzir, experimentalmente, *Babesia bovis* em *Didelphis marsupialis* não esplenectomizados, através da inoculação de antígeno de *Babesia* spp. e *A. marginale*, subcutaneamente.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se quatro fêmeas de gambá capturadas em idade de, aproximadamente, quatro meses, adaptadas em cativeiro e, após a adaptação, esplenectomizadas. A inoculação constou de 3,0 ml de sangue fresco, de bovino esplenectomizado em parasitemia, contendo 0,37% de eritrócitos parasitados por *Babesia bovis* e 19% de *A. marginale*, por via subcutânea.

O acompanhamento clínico foi feito pelo controle de temperatura retal diária, do 10º ao 45º dia após a inoculação. A parasitemia foi observada através de distensões de sangue coradas pela técnica de Giemsa, em dias alternados, do 10º ao 41º dia após a inoculação. O sangue utilizado para confecção das distensões sangüíneas foi coletado da ponta da cauda.

Para *B. bovis* o teste sorológico de imunofluorescência indireta foi desenvolvido no Setor de Doenças Infecciosas da Faculdade de Veterinária da UFRGS, e o sangue foi coletado por punção intracardíaca, 120 dias após a inoculação.

Os animais foram alimentados com ração comercial para cães, e frutas e água a vontade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na pesquisa de hemoparasitos, observou-se presença de formas iniciais e forma característica de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, e forma característica de *Anaplasma marginale*.

As formas iniciais de *B. bovis* apresentaram parasitemia de até 0,207%, no 14º dia, em um animal com temperatura de 35,3°C, e as formas iniciais de *B. bigemina* em outro animal, de 0,68%, com temperatura de 36,3°C, também no 14º dia da inoculação (Fig. 1).

Para as formas características de *B. bovis*, a parasitemia máxima foi de 0,117% no 31º dia, com temperatura de 34°C. A forma característica de *B. bigemina* apresentou parasitemia de 0,009%, no 14º dia de inoculação, com temperatura de 36,3°C. A parasitemia de *A. marginale* atingiu 0,038%, no 25º dia da inoculação, com temperatura de 34,2°C. (Fig. 1).

Observou-se intermitência na temperatura, até o 45º dia de inoculação, em todos os animais, sendo que a temperatura mais elevada foi de 37,3°C, no 33º dia da inoculação, com

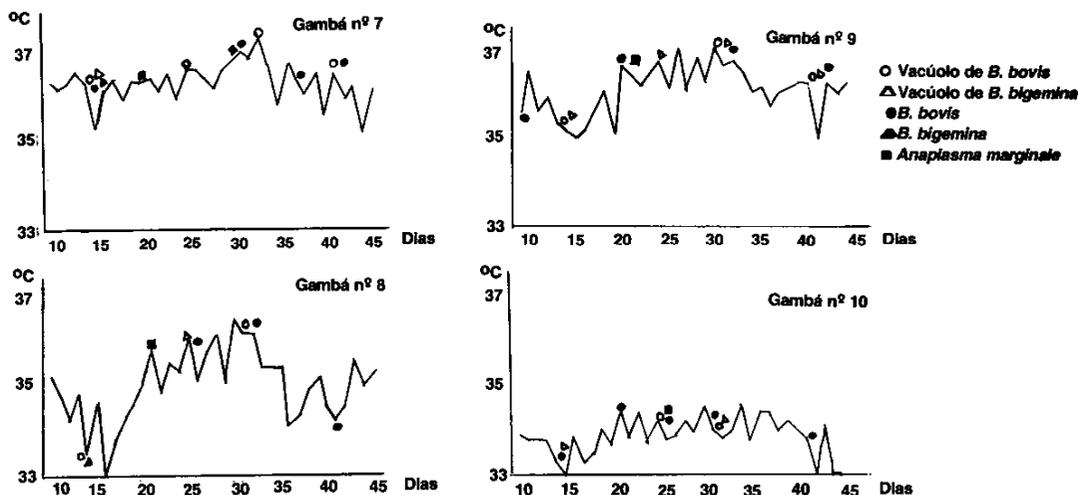


FIG. 1. Variação de temperatura (°C) e parasitemia (%) de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em fêmeas de gambás esplenectomizadas.

o animal apresentando parasitemia por formas iniciais de *B. bovis*, de 0,058%. Houve também intermitência de parasitemia no período das observações (Fig. 1).

A sintomatologia clínica observada restringiu-se à anemia, com redução no tamanho das hemácias.

No teste sorológico de imunofluorescência indireta, desenvolvido no Setor de Doenças Infecciosas, a acuidade do antígeno foi estável no título 1:32, sendo reagente ao agente *B. bovis* em dois animais, nos títulos 1:32 e 1:64.

Devido à falta de informações quanto à anatomia do *Didelphis marsupialis*, houve dificuldade na coleta de sangue em quantidade suficiente para teste sorológico, embora Jurgelski Junior (1974) mencione que se pode conseguir, de um animal adulto, até 20 ml de sangue, através da superfície ventral da cauda, quando se tem bastante experiência. A coleta só foi possível após um estudo radiológico da cavidade torácica de um dos animais, 120 dias após a inoculação, quando, então, se conseguiu coletar sangue através de punção cardíaca.

Em experimento anterior, Paiva et al. (1991), através de inoculação subcutânea de

sangue parasitado de bovino, conseguiram desenvolver parasitemia por *B. bovis* em gambás não esplenectomizados, superior aos resultados aqui relatados. Isto mostra que não se faz obrigatório a realização da esplenectomia para que o *Didelphis marsupialis* desenvolva a infecção. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por Adam et al. (1989) com o *Meriones unguiculatus* em relação a *B. divergens*.

A exploração do potencial laboratorial do *Didelphis marsupialis* e de reservatório na disseminação de zoonoses necessita de desenvolvimento e divulgação de técnicas de manejo, principalmente pelo fato de que sua utilização em pesquisa é muito limitada, devido, principalmente, à carência de informações sobre captura e manejo em cativeiro.

CONCLUSÕES

1. O *Didelphis marsupialis* é susceptível à infecção experimental pelos três agentes da tristeza parasitária bovina.

2. Deve ser explorado o potencial laboratorial do *Didelphis marsupialis*, através do desenvolvimento de pesquisas.

REFERÊNCIAS

- ADAM, M.; DORING, K.; JUNGSMANN, R. *In vivo* cultivation of *Babesia divergens* in jird (*Meriones unguiculatus*). In: CONFERENCE WORLD ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF VETERINARY PARASITOLOGY, 13., 1989, Berlin. **Proceedings...** Berlin: GDR, 1989. p.71.
- JURGELSKI JUNIOR, W. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical model. I-Research perspective husbandry and laboratory techniques. **Laboratory Animals Science**, v.24, n.2, p.376-403, 1974.
- JURGELSKI JUNIOR, W.; FORSYTHE, W.; DAHL, D.; THOMAS, L.D.; MOORE, J.A.; KOTIN, P.; FALK, H.L.; VOGES, S. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical model. II-Breeding the opossum in captivity: Facility design. **Laboratory Animals Science**, v.24, n.2, p.404-411, 1974.
- LEWIS, D.; WILLIAM, N. Infection of the Mongolian gerbil with the cattle piroplasm *Babesia divergens*. **Nature**, v.278, n.8, p.170-171, 1979.
- PAIVA, M.G.S.; CHAPLIN, E.L.; STOBBE, N.S.; ARAÚJO, F.A.P.; SILVA, N.R.S. Identificação do *Didelphis marsupialis* como hospedeiro experimental de *Babesia bovis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.4, p.565-567, 1991.
- WALLACH, J.D.; BOVER, W.J. Marsupialia and monotremes, In: MED. Surgical Management. Diseases of Exotic Animals, [S.I.]: W.B. Saunders Co., 1983. p.575-611.
- ZAUGG, J.L.; NEWMAN, B.A. Evaluation of jack rabbits as nonruminant host for *Anaplasma marginale*. **American Journal of Veterinary Research**, v.46, n.3, p.669-670, 1985.