



Pesquisa de hemoparasitos em carrapatos coletados em cães residentes no município de Itu, São Paulo/SP, Brasil

Tânia Regina Vieira de Carvalho¹; Paula Rocha Andrade²; Jonas Moraes-Filho^{1,2*}

¹Programa de Doutorado com ênfase em Saúde Única, Universidade Santo Amaro, São Paulo/SP, Brasil.

²Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Santo Amaro, São Paulo/SP, Brasil.

RESUMO

OBJETIVO

Objetivou-se nesse estudo relatar a ocorrência de *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli* e *Rangelia vitalli*, em carrapatos coletados em cães residentes no município de Itu, São Paulo/SP, Brasil.

MÉTODOS

Foi realizada a extração de DNA de 200 amostras de carrapatos com o “kit” de extração “PureLink Genomic DNA Kit” (Invitrogen®) e realizada a PCR em tempo real para a detecção de *Ehrlichia canis*, *Rangelia vitalli*, *Babesia canis vogeli*.

RESULTADOS

Foram testados 200 carrapatos, sendo 1/200 (0,5%) da espécie do gênero *Amblyomma aureolatum* e 199/200 (99,5%) de *Rhipicephalus sanguineus*. Os resultados mostram uma taxa de ocorrência de positividade apenas em *R. sanguineus*, sendo de 0,5% (1/200) para *E. canis*; 41% (82/100) para *B. c. vogeli*. Nenhum carrapato foi positivo para *R. vitalli*.

CONCLUSÕES

A detecção de *B. canis vogeli* e *E. canis* em carrapatos coletados em cães residentes no município de Itu, no Estado de São Paulo, Brasil; mostram a dispersão destes agentes patogênicos no país e o papel do *R. sanguineus* s.l. como vetor destes patógenos não pode ser negligenciado.

DESCRITORES

Ehrlichia canis, *Babesia canis vogeli*, *Rangelia vitalli*, Carrapatos.

Autor correspondente:

Jonas Moraes-Filho.

Docente no Programa de Mestrado e Doutorado em Medicina e Bem-estar Animal e Saúde Única, Universidade Santo Amaro. R. Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340 - Jardim das Imbuías, São Paulo - SP, Brasil

E-mail: jmfilho@prof.unisa.br

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4734-9512>

Copyright: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons

Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided that the original author and source are credited.

INTRODUÇÃO

Das aproximadamente 1825 espécies de carrapatos descritas no mundo apenas cerca de 10% assumem importância direta na saúde pública, devido a possibilidade de parasitarem o homem^{1,2}. Várias outras espécies de carrapatos que nunca foram descritas parasitando humanos, assumem importância indireta na saúde pública, pois contribuem para a manutenção enzootica de agentes infecciosos na natureza³.

Dentre as espécies com grande importância para a saúde pública e saúde animal, pode-se citar o *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma aureolatum*, vetores da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente causador da Febre Maculosa Brasileira⁴; sendo essa última transmissora também do protozoário *Rangelia vitalli*, agente patogênico causador da doença Rangeliose canina⁵. O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) é cosmopolita e capaz de veicular microrganismos como a *Ehrlichia canis* e *Babesia canis vogeli* em cães domésticos⁶.

A Erliquiose Monocítica Canina (EMC) tem como agente etiológico a *Ehrlichia canis*, bactéria intracelular obrigatória, encontrada no interior de monócitos e macrófagos de cães domésticos. Trata-se de uma doença multissistêmica, com apresentações clínicas agudas, subclínicas ou crônicas. A transmissão se dá no repasto sanguíneo do carrapato *R. sanguineus* infectado⁷.

A Babesiose canina é uma doença emergente de grande importância em medicina veterinária devido a sua distribuição, infectividade e patogenia⁸, que tem como agentes etiológicos os protozoários intraeritrocitários do gênero *Babesia*⁹, a espécie *Babesia canis* foi subdividida em três subespécies: *Babesia canis canis*, *Babesia canis rossii* e *Babesia canis vogeli*⁹. No Brasil, a subespécie prevalente em cães é a *B. canis vogeli* que também está distribuída nas regiões tropicais, subtropicais e mediterrâneas^{9,10}, presente em nos ambientes urbano e rural¹¹, mas principalmente em áreas urbanas e periféricas¹².

O protozoário *Rangelia vitalli* pertence a Ordem Piroplasmorida e infecta eritrócitos e células endoteliais de canídeos¹³. Em um trabalho recente realizado por Soares e colaboradores⁵; foi relatado que a espécie *A. aureolatum* é a única que demonstrou competência vetorial para *R. vitalli*, pois foi capaz de adquirir e transmitir o agente entre cães domésticos.

Considerando o risco para a ocorrência de agentes patogênicos transmitidos por esses Ixodídeos¹ em cães domésticos, torna-se primordial a realização de pesquisas com relação a ocorrência de *E. canis*, *B. canis vogeli* e *R. vitalli* em carrapatos no Brasil.

MÉTODOS

Os carrapatos foram coletados de 289 cães que foram submetidos a triagem no Centro de Controle de Zoonoses de Itu, São Paulo/SP, Brasil; para avaliação pré-cirúrgica de esterilização no período entre março e novembro de 2016. Os carrapatos foram conservados em frascos contendo álcool a 70° e devidamente identificados segundo Barros-Battesti¹⁴.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da Universidade Santo Amaro (CEUA 15/2018).

Os carrapatos foram processados individualmente. A extração de DNA foi realizada com o Kit de extração Purelink Genomic DNA (Invitrogen®), conforme instruções do fabricante. Os eluatos obtidos de DNA foram devidamente identificados e armazenados a -20° C para posterior análise molecular.

A PCR em tempo real para: a) *Babesia canis vogeli* foi realizada utilizando-se os primers senso hsp70-F e antisenso hsp70-R associados à sonda interna fluorogênica específica (5'-Hex/AGCGCCAGGCCACCAAGGACGCT-3' -IABlkFQ), obtendo-se à amplificação de um fragmento do gene hsp70¹⁵; b) para *E. canis*, foi realizada a PCR em tempo real utilizando-se os pri-

mers Dsb-321 e Dsb-671, além da sonda específica TaqMan (5'-AGCTAGTGCTGCTTGGGCAACTTTGAGTGAA-3') 5' FAM/BHQ-1 3', obtendo-se uma sequência de nucleotídeos amplificados do gene dsb¹⁶; c) para *R. vitalli* utilizou os oligonucleotídeos iniciadores denominados senso Rv751-770 e antisenso Rv930-91, além de sonda TaqMan [5'-6-FAM (CCT TAT CAA ATC ATT CTT C) MGB NFQ -3']. Este par de primers corresponde à amplificação de um fragmento do gene hsp70¹³.

As reações foram realizadas em placas de 96 poços submetidas a variações térmicas correspondentes ao ciclo inicial de 95° C por 5 minutos, seguido por 40 ciclos de 95° C por 15 segundos e 60° C por um minuto²⁸. A amplificação, aquisição e análise de dados foram realizadas pelo sistema de detecção multicolor para Real-Time PCR (7500 Real-Time PCR Systems - Applied BioSystems, Foster City, CA, EUA).

RESULTADOS

Foram testados 200 carrapatos, sendo 1/200 (0,5%) da espécie do gênero *Amblyomma aureolatum* e 199/200 (99,5%) de *Rhipicephalus sanguineus*. Os resultados mostram taxa de ocorrência de positividade apenas em *R. sanguineus*, sendo de 0,5% (1/200) para *E. canis*; 41% (82/100) para *B. canis vogeli*. Nenhum carrapato foi positivo para *R. vitalli*.

DISCUSSÃO

A maior quantidade de carrapatos coletados no presente trabalho foi da espécie *R. sanguineus* (97%), fato que já era esperado, porque foram coletados de cães que são seus principais hospedeiros (64/65) e, tais artrópodes apresentam hábito nidícola com grande proximidade aos cães e ao homem¹².

Os carrapatos da espécie *A. aureolatum* podem ser encontrados parasitando cães, tendo como principais hospedeiros naturais os carnívoros silvestres em área nativa de Mata Atlântica, para tanto, os cães tem contato com o artrópode ao visitarem áreas de fragmentação florestal¹⁷ ou regiões periurbanas¹⁸, explicando, portanto, a menor porcentagem do achado de tais espécies de carrapatos em cães do presente estudo.

Existe complexa interação entre hospedeiros, vetores, artrópodes, agentes patogênicos e, a baixa prevalência de *E. canis*, no presente estudo, podem estar relacionadas a diminuição de animais infectados para a manutenção do patógeno numa população de carrapatos, pois não ocorre a transmissão vertical no *R. sanguineus*¹⁹.

Devido ao fato da *B. canis vogeli* causar doença crônica e branda, proporciona cães infectados por maior tempo e conseqüentemente "alimento" para os carrapatos manterem suas populações infectadas por maior tempo no ambiente, destacando também que no ciclo deste hemoparasito a transmissão transovariana nos *R. sanguineus* tem grande importância na manutenção deste protozoário, fazendo com que os carrapatos possam permanecer infectados por várias gerações²⁰. Essas informações foram corroboradas pelos resultados encontrados no presente estudo, no qual 41% (82/100) dos carrapatos foram positivos para *B. canis vogeli*.

Nenhuma amostra foi positiva para *R. vitalli*, mesmo sendo coletado um espécime de *Amblyomma aureolatum*, vetor do protozoário⁵; o que sugere a necessidade do monitoramento deste patógeno no município, pois essa infecção pode causar doença severa em cães domésticos²¹.

Foram detectados por meio da PCR em tempo real, positividade de 0,5% (1/200) das amostras para *E. canis*; 41% (82/100) para *B. canis vogeli*. Destaca-se a baixa porcentagem encontrada para a bactéria, pois estudos mostram a alta prevalência da enfermidade em cães do país²². Provavelmente devido à alta infecção encontrada nestes carrapatos para *B. canis vogeli*, de alguma maneira poderia inibir a infecção para *E. canis*,

o que justificaria a diferença nos resultados encontrados; entretanto são necessários mais estudos para verificar se a competência vetorial do artrópode para estes patógenos ocorre da mesma maneira e se em coinfeções no vetor pode ocorrer inibição na proliferação de um dos patógenos.

É importante ressaltar que devido ao comportamento nidícola do *R. sanguineus* s.l., as diferenças ambientais pouco impactam na infestação ambiental deste vetor²³, sugerindo que o manejo sanitário e a guarda responsável são condutas importantes no controle dessas hemoparasitoses.

CONCLUSÃO

A detecção de *B. canis vogeli* e *E. canis* em carrapatos coletados em cães residentes no município de Itu no Estado de São Paulo/SP, Brasil; mostram a dispersão destes agentes patogênicos no país e, o papel do *R. sanguineus* s.l. como vetor destes patógenos não pode ser negligenciado.

DISCUSSÃO

Agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) por todo o apoio financeiro (número do processo 2016 / 00167-0).

REFERÊNCIAS

1. FONSECA, A. D. V., OLIVEIRA, L. M. B.; JORGE, F. R.; CAV-ALCANTE, R. O.; BEVILAQUA, C. M. L.; PINTO, F. J. M.; SANTOS, J. M. L.; TEIXEIRA, B. M.; RODRIGUES, A. K. P. P.; BRAZ, G. F.; VIANA, G. A.; COSTA, E. C.; SERPA, M. C. A.; WECK, B. C.; LABRUNA, M. B. Ocorrência de patógenos transmitidos por carrapatos em cães em uma região litorânea do estado do Ceará, nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 31, n. 1, 2022.
2. OLIVER, J. H. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodidae). *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 20, p. 397-430, 1989.
3. MCDADE, J. E.; NEWHOUSE, V. F. Natural history of *Rickettsia rickettsii*. *Annu Ver Microbiol*, v. 40, p. 287-309, 1986.
4. MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R. C.; GUTMANN, T. B.; BARBOSA, S. O.; GONZALES, M. A. R. M.; MURARO, M. A.; CECILIO, S. E. M.; LABRUNA, M. B. New Epidemiological Data on Brazilian Spotted Fever in an Endemic Area of the State of Sao Paulo, Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis*, v. 9, n. 1, p.73-78, 2009.
5. SOARES, J.F.; COSTA, F. B.; GIROTTO-SOARES, A.; DA SILVA, A.S.; FRANÇA, R.T.; TANIWAKI, S.A.; DALLAGNOL, B.; RECK, J.; HAGIWARA, M.K.; LABRUNA, M.B. Evaluation of the vector competence of six ixodid tick species for *Rangelia vitalli* (Apicomplexa, Piroplasmorida), the agent of canine rangeli-osis. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, v. 1, p. 1-1234, 2018.
6. ZHANG, J.; LIU, Q.; WANG, D.; LI, W.; BEUGNET, F.; ZHOU, J. Epidemiological survey of ticks and tick-borne pathogens in pet dogs in south-eastern China. *Parasite*, v. 24, n. 35, p. 1-8, 2017.
7. DAGNONE, A. S.; MORAIS, H. S. A.; VIDOTTO, M. C.; JOJIMA, F. S.; VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in south Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 117, n. 4, p. 285-290, 2003.
8. JEFFERIES, R.; RYAN, U. M.; JARDINE, J.; BROUGHTON, D. K.; ROBERTSON, I. D.; IRWIN, P. J. Blood, bull terriers and babesiosis: further evidence for direct transmission of *Babesia gibsoni* in dogs. *Australian Veterinary Journal*, v.85, p.459-463, 2007.
9. IRWIN, Peter J. Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. *Parasites & vectors*, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2009.
10. RAMOS, R.; RAMOS, C.; ARAUJO, F. R.; OLIVEIRA, R. H. M. de; SOUZA, I.; PIMENTEL, D.; GALINDO, M.; SANTAN, M.; ROSAS, E.; FAUSTINO, M.; ALVES, L. Molecular survey and genetic characterization of tick-borne pathogens in dogs in metropolitan Recife (north-eastern Brazil). *Parasitology re-search*, v. 107, n. 5, p. 1115-1120, 2010.
11. ZABÓ, M. P. J.; CUNHA, T. M.; PINTER, A.; VICENTINI, F. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca region, São Paulo, Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, v. 25, p. 909-916, 2001.
12. LABRUNA, M. B. & PEREIRA, M. C. Carrapato em cães no Brasil. *Clínica Veterinária*, v. 6, n. 30, p. 24-32, 2001.
13. SOARES, J. F., GIROTTO, A., BRANDÃO, P.E., SILVA, A.S., FRANÇA, R.T., LOPES, S.T.A., LABRUNA, M.B. 2011. Detection and molecular characterization of a canine piroplasm from Brazil. *Vet. Parasit.*, v.180, n.3, p.153-167, 2011.
14. BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo, Vox/ICTTD-3/Butantan. p. 223, 2006.
15. PAULINO, P.G.; PIRES, M.S.; DA SILVA C.B.; PECKLE; M., DA COSTA, R.L.; VITARI, G.L.V.; DE ABREU, A.P.M.; MASSARD, C.L.; SANTOS, H.A. Molecular epidemiology of *Babesia vogeli* in dogs from the southeastern region of Rio de Janeiro, Brazil. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*, v. 13, p. 160-165, 2018.
16. DOYLE, C.K.; LABRUNA, M.B.; BREITSCHWERDT, E.B., TANG, Y.W., CORSTVET, R.E., HEGARTY, B.C., BLOCH, K.C., LI, P., WALKER, D.H., MCBRIDE, J.W. 2005. Detection of medically important Ehrlichia by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the dsb gene. *J. Mol. Diagn.*, v.7, n.4, p.504-510, 2005.
17. SCINACHI, C. A.; TAKEDA, G. A. C. G.; MUCCI, L. F.; PINTER, A. Association of the occurrence of Brazilian spotted fever and Atlantic rain forest fragmentation in the São Paulo metropolitan region, Brazil. *Acta Tropica*, v. 166, p. 225-233, 2017.
18. ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia: IX. O complexo ovale do gênero *Amblyomma*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 59, n. 2, p. 131-148, 1961.
19. NEER, T.M. Canine monocytic and granulocytic ehrlichiosis. In: GREENE, C.E. Infectious diseases of dog and cat. Philadelphia: WB Saunders. 1998. p. 139-147.
20. MEHLHORN, H.; SHEIN, E. The piroplasms: life cycle and sexual stages. *Adv Parasitol.*, v.23, p. 37-103, 1984.
21. LEMOS, T. D.; TOMA, H. K.; ASSAD, R. Q.; SILVA, A. V.; CORRÊA, R. G. B.; ALMONSNY, N. R. P. 2017. Clinical and hematological evaluation of *Rangelia vitalli*-naturally infected dogs in southeastern Brazil. *Rev. Bras. Paras. Vet.*, v.26, p.307-313, 2017.
22. VIEIRA, R.F.C.; BIONDO, A.W.; GUIMARAES, A.M.S.; SANTOS, A.P.; SANTOS, R.P.; DUTRA, L.H.; DINIZ, P.P.V.P.; MORAIS, H.A.; MESSICK, J.B.; LABRUNA, M.B., VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 20, n. 1, p. 1-12, 2011.
23. DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Vet Parasitol*, v.152:173-185, 2008.