

Verificação da existencia de uma fase negativa do sangue no periodo prepatente da babesiose canina transmitida por carrapatos

por

W. Lobato Paraense

(Com 1 tabela)

INTRODUÇÃO

Os fatos atualmente conhecidos da biologia dos babesídeos revelam a existência de várias analogias entre estes parasitos e os plasmodídeos. Ambas estas famílias de esporozoários revelam caracteres que muito as aproximam no sistema zoológico.

Na classificação seguida por Wenyon (1926) os hemosporídeos constituem uma subordem, com as famílias Haemoproteidae e Plasmodiidae, ao lado da subordem dos piroplasmídeos que compreende as duas famílias Babesiidae e Theileriidae. No sistema adotado por Kudo (1946) os hemosporídeos constituem uma ordem formada pelas três famílias Plasmodiidae, Haemoproteidae e Babesiidae. Nesta última estão incluídos os gêneros *Babesia* e *Theileria*.

Os hemoproteídeos realizam no vertebrado uma evolução esquizogônica em células de tecidos, a qual é seguida por uma evolução gametogônica nos glóbulos do sangue.

Os plasmodídeos realizam uma evolução esquizogônica em células de tecido, a qual é seguida por uma evolução esquizogônica e outra gametogônica nos glóbulos vermelhos.

Os theilerídeos realizam uma evolução esquizogônica em células de tecido, e dos merozoítos assim produzidos aqueles que invadem as hemácias comportam-se como gametócitos. O ciclo biológico de um theilerídeo no hospedor vertebrado é perfeitamente comparável ao de um hemoproteídeo que não produz pigmento durante a fase sanguínea, como acontece no gênero *Leucocytozoon*. Em ambas as famílias, Theileriidae e Haemoproteidae, devido à

ausência de formas de multiplicação dos parasitos nos glóbulos sanguíneos, a infecção não se transmite por inoculação de sangue.

Já nos babesídeos, como nos plasmodídeos, a inoculação de sangue transmite a infecção devido à existência de formas de multiplicação dos parasitos nos glóbulos vermelhos. É certo que até hoje não se conseguiu discriminar, entre as babesias encontradas nas hemácias, aquelas formas que corresponderiam aos gametócitos dos plasmódios, mas a sua existência é admitida pelos autores.

A fim de orientar investigações sobre as babesias, adotamos como hipótese de trabalho a noção de uma equivalência entre os babesídeos e os plasmodídeos. Assim como os theilerídeos poderiam ser considerados como equivalentes a hemoproteídeos apigmentados, também os babesídeos poderiam ser grosseiramente comparados a plasmodídeos incapazes de produzir pigmento.

O presente trabalho foi feito com o propósito de averiguar a existência de uma fase negativa do sangue durante a parte inicial do período prepatente da babesiose transmitida por carrapatos. Esta fase negativa, como foi demonstrado nos últimos anos, é observada nas infecções provocadas pela inoculação de esporozoítos dos plasmódios.

MATERIAL E MÉTODOS

AMOSTRA DO PARASITO

O parasito utilizado neste trabalho foi isolado de um cão de rua do Rio de Janeiro em maio de 1948. Este animal tomou o n. 92 em um inquérito sobre a ocorrência da babesiose canina nesta cidade (Paraense & Vianna, 1948). A amostra tem sido mantida através de passagens em carrapatos *Rhipicephalus sanguineus*, que foram usados neste trabalho, e em cães criados no laboratório, seguramente livres da infecção natural.

INFECÇÃO DOS CARRAPATOS

Em janeiro de 1949 foi inoculado, por via intravenosa, um cão normal de 37 dias de idade, com sangue de outro cão portador da amostra de *B. canis* mantida no laboratório. No mesmo dia o cão inoculado foi infestado com 100 imagos normais, sendo colocado na própria câmara de criação dos carrapatos onde a temperatura ambiente é de 24-25 graus C. e a umidade relativa acima de 95%. No 3.º dia após a inoculação apareceram os primeiros parasitos nas hemácias do cão inoculado, desenvolvendo-se rapidamente intensa parasitemia

que provocou a morte do animal no 17º dia após a inoculação. Do 7º ao 10º dia após a inoculação desprenderam-se 21 fêmeas repletas de sangue. As larvas oriundas dos ovos destas fêmeas foram alimentadas em um cão normal, o qual não se infectou. As ninfas também foram alimentadas em um cão normal, que apresentou babésias no sangue a partir do 6º dia depois de ser infestado com os carrapatos. Foram finalmente obtidas mais de 1800 imagos neste lote infectado, das quais foram utilizadas 1600 no presente trabalho.

ANIMAIS DE EXPERIÊNCIA

Foram usados 12 cães, sendo 2 infestados com carrapatos e 10 inoculados com sangue por via intravenosa.

Todos os cães nasceram no laboratório, de cadelas previamente desinfestadas de ectoparasitos. Durante toda a vida estes animais foram mantidos em gaiolas amplas dotadas de piso de grade metálica e colocadas sobre grandes bandejas metálicas cheias de água. Este dispositivo preserva os animais da infestação por artrópodos não alados estranhos ao programa das experiências.

Como os carrapatos fixados aos cães são por estes devorados em grande número, para evitar que isto acontecesse nestas experiências os dois cães infestados com carrapatos ficaram amordaçados durante todo o período da infestação. A mordaca, feita sob medida para cada animal, ajustava-se perfeitamente ao focinho, sendo retirada duas vezes por dia, por ocasião das refeições. Os animais foram alimentados sob vigilância, para não se permitir que nessas ocasiões ingerissem carrapatos.

PREPARADOS DE SANGUE

Enquanto duraram as experiências foram feitos diariamente, às 15 horas, preparados de sangue de todos os cães inoculados. Os preparados, feitos pelo processo habitual de gota distendida, foram corados pelo líquido de Giemsa, sendo examinados em cada um deles 100 campos microscópicos (binocular Zeiss 1.5 — oc. 5 — obj. HI 100). O exame dos preparados foi feito sempre em regiões que mostravam os glóbulos vermelhos uniformemente distribuídos, contendo cerca de 200 elementos por campo.

EXPERIÊNCIAS E RESULTADOS

CÃO Nº 1

O cão nº 1, com 6 meses de idade, foi infestado com 1500 imagos.

Transcorridas 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a infestação com carrapatos foram inoculados respectivamente os cães ns. 1-A, 1-B, 1-C, 1-D e 1-E,

cada um dos quais recebeu, por via intravenosa, 5 ml de sangue do cão nº 1. Estes cães inoculados com sangue faziam parte de uma ninhada de 49 dias de idade completados no dia da primeira inoculação desta série.

As primeiras babésias encontradas no sangue do cão nº 1 foram vistas no preparado feito no 6º dia seguinte à infestação com carrapatos.

Os cães ns. 1-A, 1-B e 1-C permaneceram negativos durante 30 dias de observação. Estes resultados negativos indicam a ausência de babésias no sangue do cão nº 1 nos três dias subsequentes à infestação com carrapatos.

O cão nº 1-D, inoculado no 4º dia, apresentou babésias no sangue a partir do 4º dia após a inoculação, morrendo no 7º dia com intensa parasitemia.

O cão nº 1-E, inoculado no 5º dia, apresentou as primeiras hemácias parasitadas no 3º dia após a inoculação, morrendo com infecção aguda no 8º dia.

CÃO Nº 2

O cão nº 2, com 5 meses de idade, foi infestado com 100 imagos.

As condições desta experiência foram idênticas às da experiência anterior, com duas únicas exceções: o número de carrapatos colocados no cão e a idade dos cães inoculados com sangue, que era de 45 dias no início da série de inoculações.

Os cães inoculados com sangue tomaram os ns. 2-A, 2-B, 2-C, 2-D e 2-E.

As primeiras babésias no sangue do cão nº 2 foram encontradas no preparado feito no 6º dia após a infestação.

Os cães ns. 2-A, 2-B e 2-C permaneceram negativos durante 30 dias, da mesma forma que os animais correspondentes da experiência anterior.

O cão nº 2-D ficou positivo no 4º dia após a inoculação, morrendo no 10º dia.

O cão nº 2-E apresentou parasitos no 3º dia após a inoculação e morreu no 9º dia.

Vê-se, portanto, que os resultados obtidos nas duas experiências foram exatamente concordantes. Estes resultados estão resumidos na tabela 1.

DISCUSSÃO

As experiências que acabamos de descrever indicam que os esporozoítos da babésia, inoculados pelo carrapato, não penetram nos glóbulos vermelhos. Por analogia com o que ocorre nos outros hemosporídeos, deve-se admitir

também para as babésias a penetração dos esporozoítos em células de tecidos do hospedador vertebrado. Durante os três primeiros dias após a inoculação dos esporozoítos a babésia realiza uma evolução preeritrocitária nos tecidos, ao fim da qual são produzidas as formas capazes de infectar as hemácias (formas eritrocitárias). Para a *B. canis* estas formas são lançadas ao sangue no 4º dia do período prepatente. O resto do período prepatente é ocupado pela multiplicação das formas eritrocitárias, cujo número aumenta rapidamente de modo a torná-las evidenciáveis no fim do 6º dia ao exame microscópico do sangue.

Preferimos adotar esta interpretação para os resultados destas experiências porque ela está em harmonia com os fatos que ocorrem nas outras famílias de hemosporídeos.

Outra é a interpretação de Regendanz (1932) em seu trabalho sobre a evolução da *B. canis* no carrapato. É sabido que nos casos inoculados pela picada de carrapatos o aparecimento de parasitos no sangue circulante só ocorre em torno do 6º dia. Por outro lado, nos casos inoculados com sangue infectado os parasitos já podem ser evidenciados em torno do 3º dia. Além disso, a multiplicação das babésias nas glândulas salivares do artrópodo só tem início quando este começa a ingerir sangue. Baseado nestes fatos, sugere Regendanz que os carrapatos só começam a inocular esporozoítos no vertebrado no 3º ou 4º dia após o início da picada. Os esporozoítos penetrariam nas hemácias, aí multiplicando-se, até que no 6º dia após o início da picada (3º após a invasão do sangue) a parasitemia tornar-se-ia patente.

Adotando-se a interpretação de Regendanz, o período prepatente após a inoculação de esporozoítos ficaria assim dividido: 1. fase negativa do sangue, sem parasitos no corpo do vertebrado, com a duração de 3 a 4 dias (*); 2. fase subpatente, com parasitos em multiplicação nas hemácias mas ainda não evidenciáveis ao exame microscópico, durando cerca de 3 dias.

Segundo a interpretação que sugerimos, o período prepatente estaria assim dividido: 1. fase negativa do sangue, com parasitos em multiplicação em células de tecidos, com a duração mínima de 3 dias; 2. fase subpatente, com parasitos em multiplicação nas hemácias mas ainda não evidenciáveis ao exame microscópico, durando cerca de 3 dias.

Não obstante a interpretação que admitimos para a fase negativa demonstrada no presente trabalho, estamos preparando material para novas expe-

(*) Regendanz admitiu esta fase negativa por meio de ilação e não em resultado de experiências de inoculação de sangue durante este período.

riências que permitirão comprovar se os carrapatos não inoculam esporozoítos nos primeiros dias de fixação ao hospedador vertebrado. Por enquanto impressiona-nos o fato de ter sido obtida a infecção pela picada de ninfas do mesmo lote utilizado para as experiências com imagos. Julgamos que imagos oriundas de ninfas infectantes devem trazer nos dutos salivares esporozoítos aptos a serem inoculados desde que o artrópodo começa a sugar.

SUMÁRIO

Foram infestados dois cães com carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* infectados pela *Babesia canis*, tendo sido colocadas 1500 imagos no primeiro animal e 100 no segundo. Ambos os cães apresentaram infecção das hemácias após o período prepatente de 6 dias. Durante o período prepatente foram diariamente retirados de cada cão 5 ml de sangue, que foram inoculados em 10 cães jovens, por via intravenosa. Os cães inoculados no 1º, 2º e 3º dias do período prepatente permaneceram negativos. Aqueles inoculados no 4º e 5º dias apresentaram infecção pela babésia.

Estes resultados são interpretados, de acordo com os conhecimentos existentes sobre a evolução preeritrocitária dos outros hemosporídeos, como indicadores da existência, no hospedador vertebrado, de uma fase inicial de evolução da babésia em células de tecido, que corresponde a uma fase negativa do sangue e que tem a duração mínima de 3 dias.

REFERÊNCIAS

KUDO, R. R.

1946. *Protozoology*, 3rd edition. Charles C. Thomas, publ. Illinois.

PARAENSE, W. L. & Y. L. VIANNA

1948. Algumas observações sobre a babesiose dos cães no Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 46 (3) : 595-603.

REGENDANZ, P.

1932. Untersuchungen über das Hundepiroplasma (*Babesia canis*) in der Zecke. *Deut. Tierärztl. Wochensch.* 47 : 745-748.

WENYON, C. M.

1926. *Protozoology*, vol. II. Baillièrre, Tindall and Cox, London.

TABELA I

PROVAS DE INOCULAÇÃO, DURANTE O PERÍODO PREPATENTE, DE SANGUE DOS CÃES, NS. 1 E 2, INFESTADOS COM CARRAPATOS PORTADORES DE *BABESIA CANIS*, EM CÃES JOVENS NORMAIS

CÃES DOADORES N.º	CÃES INOCULADOS N.º	DIA DA INOCULAÇÃO (APÓS INFESTAÇÃO DO DOADOR)	HEMÁCIAS PARASITADAS EM 100 CAMPOS										OBSERVAÇÕES	
			DIAS APÓS A INOCULAÇÃO											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1*	1-A	1.º	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo durante 30 dias Negativo durante 30 dias Negativo durante 30 dias Morreu no 7.º dia Morreu no 8.º dia
	1-B	2.º	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1-C	3.º	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1-D	4.º	0	0	0	1	18	1074	1593					
	1-E	5.º	0	0	1	48	817	594	1146	673				
2**	2-A	1.º	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo durante 30 dias Negativo durante 30 dias Negativo durante 30 dias Morreu no 10.º dia Morreu no 9.º dia
	2-B	2.º	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2-C	3.º	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2-D	4.º	0	0	0	2	283	472	387	158	3	78		
	2-E	5.º	0	0	1	30	237	583	290	438	1631			

* Infestado com 1500 imagos. Primeiras hemácias parasitadas no 6.º dia.

** Infestado com 100 imagos. Primeiras hemácias parasitadas no 6.º dia.