



FATORES DE RISCO E PREVALÊNCIA DE *Babesia bovis* EM BOVINOS DA RAÇA FLAMENGA

Julio de Matos Vettori¹, Jônatas Carissimi Lovatel², Louise Krueger², Luiz Cláudio Milette³, Carla Ivane Ganz Vogel³, Anderson Barbosa de Moura³, Mere Erika Saito³, Mariana da Silva Casa⁴, Joandes Henrique Fonteque⁵

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária - CAV – bolsista PIVIC/UDESC.

² Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária – CAV.

³ Professor Participante do Departamento de Medicina Veterinária – CAV.

⁴ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – CAV.

⁵ Orientador, Departamento de Medicina Veterinária - CAV – joandes.fonteque@udesc.br.

Palavras-chave: Bovino. Epidemiologia. PCR.

Dentre os agentes causadores do complexo de doenças conhecido como Tristeza Parasitária Bovina, o protozoário *Babesia bovis* é, em grande parte dos casos, o agente mais frequente, sendo assim o maior responsável pelas perdas econômicas que envolvem mortalidade, queda na produção de leite, diminuição do ganho de peso, abortamentos, infertilidade, além de gastos com tratamento, controle e profilaxia. Por ser uma doença de grande impacto em quase todos os países de clima tropical e subtropical, e pelo fato de não existirem dados na literatura sobre um levantamento epidemiológico da doença em animais da raça Flamenga, percebeu-se a necessidade da realização deste projeto. O objetivo do presente trabalho é determinar a prevalência de *Babesia bovis* por meio da Reação em Cadeia da Polimerase em bovinos da raça Flamenga, realizar o hemograma completo e correlacionar os dados da prevalência e do hemograma com as variáveis analisadas. O projeto está sendo executado por uma equipe envolvendo a Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC). Foram utilizados 40 bovinos machos e fêmeas, jovens e adultos, da raça Flamenga provenientes da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) - Estação Experimental de Lages. Os animais foram avaliados por meio do exame físico e foram colhidas amostras do número total de animais do rebanho por meio da venopunção jugular externa (10mL) em tubos a vácuo com anticoagulante EDTA 10% para a realização do perfil hematológico por meio da contagem total de eritrócitos e leucócitos, hematócrito, concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), contagem de plaquetas e contagem diferencial de leucócitos, concentração de proteína total plasmática e fibrinogênio plasmático. Os tubos foram armazenados sob refrigeração em caixas isotérmicas e transportados para o Laboratório Clínico Veterinário do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV-UDESC), Lages, onde cada amostra foi dividida em dois micro tubos, devidamente identificados. Um dos tubos foi usado para realizar os exames hematológicos e outro será utilizado para realizar a pesquisa dos agentes por meio da multiplex PCR no Laboratório de Bioquímica. O hemograma foi realizado por meio do método hemocitométrico e esfregaços sanguíneos corados com panótico rápido para a contagem diferencial de leucócitos. Os esfregaços sanguíneos foram visualizados em microscópio



óptico sob objetiva de imersão (100x). A concentração de proteína total plasmática foi determinada pelo método de refratometria (refratômetro ATTAGO Co) e a determinação do fibrinogênio plasmático pelo método de precipitação pelo calor, segundo JAIN (1993). O volume globular (VG) foi determinado pelo método de micro hematócrito. O volume globular médio (VGM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina globular média (CHGM) foram realizados segundo técnica descrita por JAIN (1993). A concentração de hemoglobina foi determinada por meio de equipamento eletrônico Theratio Plate® Tp analyzer, utilizando o kit reagente de cor Bioclin. Para a extração do DNA genômico total das amostras, utilizar-se-á kit comercial (Promega) de acordo com as instruções do fabricante. Após a extração, o DNA será mensurado por meio de espectrofotômetro Nano Drop 2000 (Thermo Scientific) e diluído para manter-se uma concentração mínima de 20 ng/ μ L. Para amplificação do DNA genômico extraído das amostras de sangue e controles positivos, serão realizadas as reações de PCR, utilizando-se primers para amplificarem fragmentos específicos de *Babesia bovis*. Um controle negativo será utilizado para garantir a qualidade e especificidade da técnica, seguindo o mesmo método, porém com a substituição do uso de DNA genômico por água ultra pura, livre de DNase. Para detecção mais acurada de *Babesia bovis*, será realizada a nested PCR, com primers específicos. A eletroforese dos produtos de amplificação será realizada em cuba horizontal, em gel de agarose a 2% acrescido do corante Unisafe Dye. A visualização será feita mediante exposição à luz ultravioleta. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo CEUA nº 2440240516. A análise univariada será realizada para comparar as taxas de infecção por *B. bovis* com o sexo dos animais, utilizando o teste de qui-quadrado ($p \leq 0,05$) e análise da Odds Ratio. Todos os dados serão submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade. Para a comparação das médias das variáveis, tanto clínicas quanto hematológicas, entre animais positivos e negativos utilizar-se-á o teste t para dados considerados paramétricos e o teste de Mann-Whitney para os não-paramétricos ($p \leq 0,05$). Até o momento, foram realizados o exame clínico, a coleta das amostras e o hemograma dos animais. A média das variáveis hematológicas analisadas revelou uma leucocitose por linfocitose porém, como o projeto se encontra em fase de andamento e as análises molecular e estatística não foram realizadas, não é possível fazer a discussão dos resultados. Todas as demais variáveis avaliadas encontram-se dentro dos valores de referência para a espécie bovina.