

TABANÍDEOS E A TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA NO URUGUAI: EXPLORANDO POTENCIAIS VETORES MECÂNICOS

DIULIANI FONSECA MORALES¹; LUANA FERREIRA VIANA DOS REIS²;
MARIANA CAVALCANTI NASCIMENTO³; GRATCHELA DUTRA RODRIGUES⁴;
WILLIAM BORGES DOMINGUES⁵; RODRIGO FERREIRA KRÜGER⁶

¹Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia UFPel 1 – diulimoralesfonseca@gmail.com 1

²Laboratório de Genômica Estrutural UFPel – luanafvreis@gmail.com

³Laboratório de Genômica Estrutural UFPel – marianacbiotec@gmail.com

⁴Pós-Graduação em Biodiversidade UFPel – gratirodrigues.gdr@gmail.com

⁵Laboratório de Genômica Estrutural UFPel – williamwwe@gmail.com

⁶Laboratório de Ecologia de Parasitos e Vetores UFPel – rfkruger@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Diversos protozoários da ordem Piroplasmida são responsáveis por causar doenças que acometem animais. Para a pecuária, as perdas econômicas mais relevantes são em decorrência de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, que, juntamente com *Anaplasma marginale*, causam o complexo de doenças denominado Tristeza Parasitária Bovina (TPB) (FRASER et al. 1996).

As mutucas, como são popularmente denominados os indivíduos de Tabanidae, são consideradas as mais eficientes dentre os vetores mecânicos, estando envolvidas na transmissão de diferentes patógenos associados ao gado: vírus da leucose bovina, *Brucella* spp., *Bacillus anthracis*, *Trypanosoma vivax*, *Anaplasma marginale*, dentre outros (BALDACCHINO et al. 2014). A importância das mutucas no cenário da transmissão mecânica se dá pelo seu tamanho robusto, com peças bucais grandes capazes de carregar maior quantidade de sangue em relação a outros vetores mecânicos (FOIL; GORHAM, 2000); da sua picada dolorosa que leva o hospedeiro inicial a afastá-las; e, ao fato de não serem persistentes ao hospedeiro inicial durante a hematofagia (FOIL, 1989).

O principal vetor biológico dos parasitos da TPB e o transmissor de maior relevância econômica é o carrapato *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) (MIRABALLES; RIET-CORREA, 2018; MIRABALLES; ARÁOZ, 2019). No entanto, um estudo realizado com tabanídeos do Uruguai, detectou *A. marginale* em quatro diferentes espécies, e que provinham tanto de zonas consideradas infestadas por carrapatos quanto da zona tida como livre (RODRIGUES et al. 2022). Achados assim, levantam suspeitas de que esses potenciais vetores mecânicos estejam fazendo parte do ciclo da TPB nos locais onde foram encontrados os tabanídeos infectados. De forma geral, vetores mecânicos são considerados menos eficientes do que os biológicos (SCOLES; MILLER; FOIL, 2008), porém podem atuar em conjunto com estes, ampliando as chances de transmissão e, em certas circunstâncias, adquirir relevância epidemiológica, principalmente em áreas consideradas limítrofes para o vetor biológico.

Devemos considerar que, diferente do que ocorre para *A. marginale*, em que a transmissão por tabanídeos já é documentada, para *Babesia* spp. a única forma de transmissão corroborada até o momento é aquela realizada pelo vetor biológico (FRASER et al., 1996). Todavia, relatos de transmissão mecânica por fômites contaminados com merozoítos do protozoário (FRASER et al. 1991), deixam brecha para a possibilidade de transmissão por insetos vetores, ainda que sem relevância epidemiológica reconhecida (FRASER et al. 1991; WOAH, 2021).

Por estar na zona de instabilidade enzoótica para TPB, o Uruguai sofre graves perdas econômicas devido a surtos de anaplasmoses e babesiose, cerca de 14 milhões de dólares ao ano (SOLARI, 2006). Somando-se os custos voltados ao carapato, o custo aumenta para cerca de 46 milhões de dólares ao ano (MIRABALLES et al. 2018). Os prejuízos resultam do impacto causado na produção pecuária, na comercialização de produtos derivados, em tratamento para as doenças e nas medidas de controle para *R. microplus* (SOLARI, 2006; MIRABALLES; ARÁOZ, 2019).

Dada a importância econômica da TPB para os rebanhos uruguaios e a taxa de infecção de anaplasmoses e babesiose na região, estimada em 26% (FERREIRA et al. 2022), nosso objetivo consiste na verificação dos mesmos tabanídeos examinados no estudo prévio de *A. marginale* (RODRIGUES et al., 2022), porém com foco ampliado na detecção e caracterização molecular de *B. bovis* e *B. bigemina*.

2. METODOLOGIA

Os tabanídeos utilizados no estudo foram coletados por LUCAS et al. (2020). As coletas foram realizadas em três diferentes departamentos do Uruguai: Colônia, Paysandú e Tacuarembó, sendo o primeiro considerado livre de carapatos e os dois últimos situados na zona infestada por *R. microplus* (MIRABALLES; RIET-CORREA, 2018). Esses tabanídeos foram capturados manualmente sobre o gado enquanto realizavam hematofagia e também através de armadilhas NZI (LUCAS et al. 2020).

A extração de DNA genômico total dos indivíduos de Tabanidae foi realizada por RODRIGUES et al. (2022), com o kit comercial PureLink® Genomic DNA (ThermoFisher Scientific Inc., EUA). Também avaliou-se a concentração e a pureza do DNA, selecionando para a detecção molecular apenas as amostras com razão de absorbância na faixa de 1,8–2,0 (RODRIGUES et al. 2022), o que totalizou 95 amostras: 57 de Colônia, 31 de Paysandú e 7 de Tacuarembó.

Para as amostras de DNA genômico foi realizado PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) do tipo *nested* a partir de conjuntos de *primers* espécie-específicos, tendo como genes-alvo: Rap1a (412pb) e gp45 (853pb) para *B. bigemina*, e Rap1a (1008pb) e BbSBP4 (503pb) para *B. bovis* (MTSHALI; MTSHALI, 2013; TERKAWI et al. 2011). Os resultados das PCRs foram analisados por corrida eletroforética em gel de agarose 1,2%. As amostras que resultaram em uma amplificação, serão purificadas usando o kit comercial PureLink (ThermoFisher Scientific, EUA) e, posteriormente, sequenciadas pelo método de Sanger automatizado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o momento foram realizadas 85 PCRs, das quais 4 apresentaram amplicons de tamanho esperado para *B. bigemina*, considerando todos os conjuntos de *primers* usados para a espécie. Para *B. bovis*, duas amostras amplificaram, porém os amplicons foram menores do que o esperado (500 de 1008pb) e, mesmo nesse caso, apenas um conjunto de *primers* foi responsável pelas amplificações.

As amostras positivas para *B. bigemina* equivalem a 4,7% das amostras testadas. Um dos indivíduos de Tabanidae infectado provém de Colônia, outro de Paysandú e dois de Tacuarembó, correspondendo respectivamente à zona livre

de carrapatos e às zonas infestadas. Já os dois indivíduos potencialmente positivos para *B. bovis* são oriundos de Tacuarembó, e representam 2,37% do total (Tabela 1).

As espécies de tabanídeos que apresentaram DNA de *B. bigemina* foram *Tabanus tacuaremboensis* KROLOW; LUCAS; HENRIQUE (2022) (Colônia), *Poeciloderes lindneri* KRÖBER (1930) (Paysandú) e *Dasybasis missionum* (MACQUART, 1838) (Tacuarembó), sendo esta última também positiva para *B. bovis*. A maioria das amostras positivas foram de mutucas coletadas diretamente sobre os animais (Tabela 1).

Tabela 1. Tabanídeos positivos para *B. bigemina* e/ou *B. bovis* no Uruguai.

Espécie	Local	Patógeno	Coleta	+ <i>A. marginale</i>
<i>T. tacuaremboensis</i>	Colônia	<i>B. bigemina</i>	Nzi	Não
<i>P. lindneri</i>	Paysandú	<i>B. bigemina</i>	Sobre animais	Sim
<i>D. missionum</i>	Tacuarembó	<i>B. bigemina</i>	Sobre animais	Sim
<i>D. missionum</i>	Tacuarembó	<i>B. bigemina</i>	Sobre animais	Não
<i>D. missionum</i>	Tacuarembó	<i>B. bovis</i>	Sobre animais	Não
<i>D. missionum</i>	Tacuarembó	<i>B. bovis</i>	Sobre animais	Sim

Existe apenas um registro mundial publicado de detecção molecular de *B. bigemina* em mutucas, ocorrido na África (TAIOE et al. 2017), onde 21,66% estavam infectadas. Outro trabalho, na Ásia, detectou *Babesia* spp., em 5,5% das 128 coletas de mutucas (SONTIGUN et al. 2022). Em nosso estudo, se considerarmos por localidade a positividade para ambas as espécies de *Babesia* de interesse, temos: Colônia com 1,81%, Paysandú com 4,34%, e Tacuarembó com 57,14%. Levando em conta as 85 amostras avaliadas, em 2,35% e 1,17% observou-se coinfeção *B. bigemina/A. marginale* e *B. bovis/A. marginale* respectivamente (RODRIGUES et al., 2022).

Ainda que não se tenha relatos de transmissão mecânica de babesiose por insetos vetores, sabe-se que a transmissão mecânica é dependente de certos fatores, como o nível de parasitemia do hospedeiro, a densidade de insetos vetores e a proximidade dos hospedeiros (DESQUESNES et al., 2009; BARROS, 2007). As espécies de tabanídeos infectadas com *B. bigemina* e *B. bovis* em nosso estudo, estão entre as 4 espécies mais abundantes coletadas por LUCAS et al. (2021) em seu trabalho sobre a diversidade de tabanídeos no Uruguai.

4. CONCLUSÕES

Nosso estudo representa a segunda detecção mundial de *B. bigemina* em tabanídeos, e primeira detecção em tabanídeos da América Latina, expandindo a lista de patógenos carregados por mutucas na região.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDACCHINO, F. et al. Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents!. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 28, p. 596-615,

2014.

- BARROS, A. T. M.; FOIL, L. D. The influence of distance on movement of tabanids (Diptera: Tabanidae) between horses. **Veterinary parasitology**, v. 144, n. 3-4, p. 380-384, 2007.
- DESQUESNES, M. et al. Development of a mathematical model for mechanical transmission of trypanosomes and other pathogens of cattle transmitted by tabanids. **International Journal for Parasitology**, v. 39, n. 3, p. 333-346, 2009.
- FERREIRA, G. C. M. et al. Prevalence of bovine *Babesia* spp., *Anaplasma marginale*, and their co-infections in Latin America: systematic review-meta-analysis. **Ticks and Tick-borne Diseases**, p. 101967, 2022.
- FOIL, L. D. Tabanids as vectors of disease agents. **Parasitology today**, v. 5, n. 3, p. 88-96, 1989.
- FOIL, L. D.; GORHAM, J. R. Mechanical transmission of disease agents by arthropods. **Medical entomology: a textbook on public health and veterinary problems caused by arthropods**, p. 461-514, 2000.
- FRASER, C. et al. **Manual Merck de Veterinária**. 7 ed. São Paulo: Roca. 1996.
- KROLOW, Tiago Kütter; LUCAS, Martín; HENRIQUES, Augusto Loureiro. Revisiting the tabanid fauna (Diptera: Tabanidae) of Uruguay: Notes on the species of the genus *Tabanus* Linnaeus, with the description of a new species. **Neotropical Entomology**, v. 51, n. 3, p. 447-457, 2022.
- MIRABALLES, C.; RIET-CORREA, F. A review of the history of research and control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, babesiosis and anaplasmosis in Uruguay. **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, n. 4, p. 383-398, 2018.
- MIRABALLES, C.; ARÁOZ, V.; RIET-CORREA, F. *Rhipicephalus microplus*, babesiosis and anaplasmosis in Uruguay: current situation and control or elimination programs on farms. **Experimental and Applied Acarology**, v. 78, p. 579-593, 2019.
- MTSHALI, M. S.; MTSHALI, P. S. Molecular diagnosis and phylogenetic analysis of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* hemoparasites from cattle in South Africa. **BMC veterinary research**, v. 9, p. 1-7, 2013.
- LUCAS, M. et al. Diversity and seasonality of horse flies (Diptera: Tabanidae) in Uruguay. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020.
- RODRIGUES, G. D. et al. Molecular of *Anaplasma marginale* Theiler (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in horseflies (Diptera: Tabanidae) in Uruguay. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 22460, 2022.
- SCOLES, G. A.; MILLER, J. A.; FOIL, L. D. Comparison of the efficiency of biological transmission of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) by *Dermacentor andersoni* Stiles (Acari: Ixodidae) with mechanical transmission by the horse fly, *Tabanus fuscostatus* Hine (Diptera: Muscidae). **Journal of medical entomology**, v. 45, n. 1, p. 109-114, 2008.
- SOLARI, M. A. Epidemiología y perspectivas en el control de hemoparásitos. **XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría**, 2006.
- SONTIGUN, N. et al. First study on molecular detection of hemopathogens in tabanid flies (Diptera: Tabanidae) and cattle in Southern Thailand. **Veterinary World**, v. 15, n. 8, 2022.
- TAIOE, M. O. et al. Characterization of tabanid flies (Diptera: Tabanidae) in South Africa and Zambia and detection of protozoan parasites they are harbouring. **Parasitology**, v. 144, n. 9, p. 1162-1178, 2017.
- TERKAWI, Mohamad Alaa et al. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the northeast region of Thailand. **Veterinary Parasitology**, v. 178, n. 3-4, p. 201-207, 2011.
- WOAH. **Bovine babesiosis**. 2021. bovine-babesiosis-1.pdf. Acesso em maio de 2023.