

DETECÇÃO MOLECULAR DE *TRYPANOSOMA spp.* EM MUTUCAS DO TOCANTINS

KÉTELLIN DUARTE GONÇALVES¹; DIULIANI MORALES FONSECA²; LUANA FERREIRA VIANA DOS REIS³; MARIANA CAVALCANTI NASCIMENTO⁴; WILLIAM BORGES DOMINGUES⁵; RODRIGO FERREIRA KRÜGER⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas-* ketyduggon@gmail.com

²*Universidade Federal de Pelotas-* diulimoraesfonseca@gmail.com

³*Universidade Federal de Pelotas-* luanafvreis@gmail.com

⁴*Universidade Federal de Pelotas-* marianacbiotec@gmail.com

⁵*Universidade Federal de Pelotas-* wiliamwwe@gmail.com

⁶*Universidade Federal de Pelotas-* rskruger@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os tabanídeos são popularmente conhecidos como mutucas e estão entre as principais pragas de dípteros do homem e dos animais (FOIL, 1989). Os machos possuem uma alimentação de natureza nectarívora, já as fêmeas adotam um comportamento hematófago, obtendo suas refeições sanguíneas. Particularmente as fêmeas necessitam de sangue para que haja maturação dos ovócitos em processo de desenvolvimento (FAIRCHILD, 1981; FOIL; HOGSETTES, 1994). Por essa razão as fêmeas são descritas como vetores mecânicos de aproximadamente 36 parasitos, incluindo os patógenos que causam doenças em rebanhos equinos e bovinos, sendo estas: Anemia infecciosa equina, anaplasmosse, brucelose, tripanossomíases etc (BALDACCHINO et al., 2014).

A picada dessas moscas, por sua vez, é bastante dolorosa. Assim, a hematofagia é comumente interrompida pelo hospedeiro vertebrado, forçando o inseto a procurar outro animal para concluir sua ingestão de sangue. Esse comportamento alimentar facilita a transmissão de patógenos entre os animais, em especial aqueles do mesmo rebanho. Os tabanídeos são os principais vetores mecânicos que transmitem rotineiramente patógenos entre animais por transferência de sangue (BARROS; FOIL, 2007).

Dos parasitos associados a transmissão por mutucas, mais de 54% ocorrem em território brasileiro (BALDACCHINO et al., 2014). No estado de Tocantins (TO), que se situa na região norte do país, alguns destes se fazem presentes, dentre eles, *Anaplasma marginale* (DA SILVA et al., 2015); e *Trypanosoma vivax* (LINHARES; GUIDO FONTGALLAND COELHO et al., 2006). Para *Trypanosoma evansi*, não existe registro de ocorrência no estado, porém existem relatos em estados vizinhos, como Mato Grosso (FRANKE et al., 1994), Maranhão (FERREIRA et al., 2018), Bahia (COSTA et al., 2019) e Pará (SILVA et al., 2016).

Anaplasma marginale (Rickettsia intra-eritrocitária) é o causador da anaplasmosse, doença que gera prejuízos econômicos na pecuária (DA SILVA et al., 2015). A anaplasmosse acomete bovinos, nos quais pode provocar anemia, febre, diarreia, perda de peso, aborto, entre outros (VIDOTTO, 1999). O principal vetor biológico é o carapato *Rhipicephalus microplus*, mas pode ser também transmitido por tabanídeos e pela mosca-dos-estábulos (*Stomoxys calcitrans*) (KONAN et al., 2010). A transmissão mecânica possui importância secundária na

disseminação de *A. marginale*, ainda assim pode contribuir para sua disseminação (BALDACCHINO et al., 2014).

Trypanosoma vivax e *T. evansi* são os causadores das doenças conhecidas, respectivamente, como tripanossomíase bovina e Surra, esta última afetando principalmente equinos (DESQUESNES; MARC et al., 2022). Diferente de *A. marginale*, *T. vivax* e *T. evansi* não possuem vetores biológicos no continente americano, sendo a transmissão mecânica a principal via de disseminação (DESQUESNES 2004; DESQUESNES et al., 2022). Dos vetores mecânicos, os tabanídeos são considerados os mais importantes (DESQUESNES, 2004). De modo geral, tanto a tripanossomíase bovina quanto a Surra apresentam como sinais clínicos: emagrecimento, letargia, febre, icterícia e problemas reprodutivos. No entanto, *T. vivax* apresenta sintomas adicionais como hipoglicemia, sinais nervosos, perda de coordenação motora, espasmos musculares e cegueira, podendo levar os bovinos afetados à morte em poucos dias (BATISTA et al., 2008).

Dado o papel dos tabanídeos como vetores mecânicos de parasitos causadores de doenças, especialmente em regiões tropicais como o estado do Tocantins, é importante compreender possíveis vias de disseminação desses patógenos. Assim, o presente estudo tem como objetivo investigar a presença de *Anaplasma marginale* e *Trypanosoma* spp. em mutucas coletadas no Tocantins.

2. METODOLOGIA

Os espécimes de Tabanidae empregados neste estudo foram coletados durante o primeiro semestre de 2023 em uma fazenda situada no município de Porto Nacional (TO). A propriedade rural está inserida em uma região de vegetação típica do Cerrado, próxima a um córrego. Na área, foram instaladas armadilhas Nzi nas proximidades do comedouro (cocho) do gado. No total, 36 espécimes foram utilizados aqui: *Tabanus occidentalis* (9), *T. mucronatus* (8), *T. palpalis* (6), *T. antarcticus* (6), *Poeciloderas quadripunctatus* (Fab.) (2), *T. rubripes Macquart* (1), *T. xuthopogon Fairchild* (1), *Diachlorus curvipes* (Fab.) (1), *T. claripennis* (Bigot) (1), *Selasoma tibiale* (Fab.) (1).

O DNA total de cada um dos 36 indivíduos de Tabanidae foi extraído utilizando o kit comercial PureLink® Genomic DNA (ThermoFisher Scientific Inc., EUA). Para a realização da detecção molecular, realizamos PCRs a partir de primers específicos para *A. marginale* e para o gênero *Trypanosoma*. Para *Trypanosoma* spp., realizamos uma semi-nested PCR, tendo como gene alvo a subunidade menor ribossomal 18S (~700pb) (JAIMES-DUEÑEZ; TRIANA-CHÁVEZ; MEJÍA-JARAMILLO, 2018); e uma nested PCR tendo como o alvo o gene GAPDH (FERMINO et al., 2019). Para *A. marginale*, o alvo foi um fragmento do gene codificador da proteína de superfície principal 5, msp5 (PARODI et al., 2021).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foram avaliadas 36 amostras de tabanídeos coletadas no estado de Tocantins. Todas as amostras mostraram amplificação para o gênero *Trypanosoma*, tanto para o gene 18S quanto para o GAPDH. No entanto, nenhuma das amostras apresentou amplificação para *A. marginale*, considerando o gene msp5.

Este é o primeiro estudo a avaliar a presença de *Trypanosoma* em mutucas no Tocantins e no Norte do Brasil. Comparando com estudos nacionais, RAMOS et al. (2023) detectaram *T. evansi* pela primeira vez em tabanídeos da América do Sul, no estado de Santa Catarina. FERMINO et al. (2019) descobriram uma nova espécie, *Trypanosoma kaiowa*, um parasito de jacarés, em mutucas da Amazônia. Mais tarde, na planície costeira do Rio Grande do Sul, RODRIGUES et al. (2022) detectaram *T. kaiowa* na espécie de tabanídeo considerada a mais abundante da região (KROLOW; KRUGER, 2015). Desse modo, ressaltamos a potencial relevância dos nossos dados para a saúde animal, visto que esses dípteros são os principais vetores de *T. vivax* e *T. evansi* na América Latina, e também são vetores de tripanossomatídeos de animais silvestres (FERMINO et al., 2019).

A espécie de tabanídeo *T. occidentalis* está entre as espécies mais abundantes para o estado de Tocantins (DA COSTA, 2021) e representa 25% das nossas amostras. A alta abundância desta espécie somado a sua positividade para *Trypanosoma* spp., sugere que ela tenha contribuição na transmissão desse parasito, independentemente da espécie em questão.

4. CONCLUSÕES

Neste estudo, confirmamos a detecção de *Trypanosoma* spp. em 100% dos tabanídeos avaliados. Ressaltamos que as mutucas positivas podem estar infectadas tanto por espécies de tripanossomatídeos reconhecidamente patogênicas para animais de rebanho quanto por espécies de *Trypanosoma* que parasitam a fauna silvestre. Amostras serão sequenciadas posteriormente para a identificação da(s) espécie(s) presente(s)

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDACCHINO, F.; et al. Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! *Infection, Genetics and Evolution*, Amsterdam, 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*, Amsterdam, v. 144, n. 3-4, p. 380-384, 2007.
- BATISTA, J. S.; et al. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 28, p. 63-69, 2008.
- COSTA, S. C. L.; et al. Frequency and factors associated with *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Trypanosoma evansi* in equids from Bahia (Northeast Brazil). *Revista Brasileira de Parassitologia Veterinária*, São Paulo, v. 28, p. 47-58, 2019.
- DA COSTA, M. V.; et al. Tabanidae (Diptera) captured on horses in the Cerrado biome of Tocantins, Brazil. 2023.
- DA SILVA, J. B.; et al. Serological detection of *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in beef cattle of the northern and central-western regions of Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 3, p. 1431-1435, 2015.
- DESQUESNES, M. Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America. Paris: OIE, 2004.
- DESQUESNES, M.; et al. A review on the diagnosis of animal trypanosomoses. *Parasites & Vectors*, London, v. 15, n. 1, p. 64, 2022.

- FAIRCHILD, G. B. Tabanidae. In: HULBERT, S. H. C.; RODRIGUEZ, N. D. (Org.). Aquatic Biota of Tropical South America, Part 1, Arthropoda. San Diego: San Diego State Univ., 1981. p. 452-460.
- FERMINO, B. R.; et al. Shared species of crocodilian trypanosomes carried by tabanid flies in Africa and South America, including the description of a new species from caimans, *Trypanosoma kaiowa* n. sp. *Parasites & Vectors*, London, v. 12, p. 1-17, 2019.
- FERREIRA, F. P.; et al. "Baixadeiros" horses: prevalence of anti-*Trypanosoma* spp. and anti-*Leishmania* spp. antibodies. *Ciência Animal Brasileira*, Brasília, 2018.
- FOIL, L. D.; HOGSETTE, J. A. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, Paris, v. 13, p. 1125-1158, 1994.
- FOIL, L. D. Tabanids as vectors of disease agents. *Parasitology Today*, Amsterdam, v. 5, n. 3, p. 88-96, 1989.
- FRANKE, C. R.; GREINER, M.; MEHLITZ, D. Investigations on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Pantanal de Poconé (Mato Grosso, Brazil). *Acta Tropica*, Amsterdam, v. 58, p. 159-169, 1994.
- JAIMES-DUEÑEZ, J.; TRIANA-CHÁVEZ, O.; MEJÍA-JARAMILLO, A. M. Spatial-temporal and phylogeographic characterization of *Trypanosoma* spp. in cattle (*Bos taurus*) and buffaloes (*Bubalus bubalis*) reveals transmission dynamics of these parasites in Colombia. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 249, p. 30-42, 2018.
- KOCAN, K. M.; et al. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 167, n. 2-4, p. 95-107, 2010.
- KRÜGER, Rodrigo Ferreira; KROLOW, Tiago Kütter. Seasonal patterns of horse fly richness and abundance in the Pampa biome of southern Brazil. *Journal of Vector Ecology*, v. 40, n. 2, p. 364-372, 2015.
- LINHARES, G. F. C.; et al. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins (relato de caso). *Ciência Animal Brasileira*, Brasília, v. 7, n. 4, p. 455-460, 2006.
- PARODI, P.; et al. Validation of a multiplex PCR assay to detect *Babesia* spp. and *Anaplasma marginale* in cattle in Uruguay in the absence of a gold standard test. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 73-79, 2021.
- VIDOTTO, O.; MARANA, E. R. M. Anaplasmose bovina: aspectos epidemiológicos, clínicos e controle. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 20, n. 1, p. 98-106, 1999.
- RODRIGUES, G. D.; et al. Molecular detection of *Trypanosoma kaiowa* in *Tabanus triangulum* (Diptera: Tabanidae) from the coastal plain of Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Acta Parasitologica*, Warsaw, v. 67, n. 1, p. 518-522, 2022.