

SELEÇÃO DE POTENCIAIS PEPTÍDEOS PARA DIAGNÓSTICO DE BABESIOSE CANINA POR IMUNOINFORMÁTICA

WILLIAN CARDOSO FERREIRA¹; KAUE RODRIGUEZ MARTINS²; FABIO RAPHAEL PASCOTI BRUHN³; RODRIGO CASQUERO CUNHA⁴;

¹ Universidade Federal de Pelotas – willian.cardoso@ufpel.edu.br

² Universidade Federal de Pelotas – kauerodriguez@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – fabio_rpb@yahoo.com.br

⁴ Universidade Federal de Pelotas – rodrigo.cunha@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A babesiose canina, uma doença parasitária transmitida por carrapatos *Rhipicephalus sanguineus*, é uma das patologias que mais afetam cães no Brasil, particularmente em regiões tropicais e subtropicais, ainda que em expansão para novas áreas do território nacional (De Vargas e Bastos *et al.*, 2024; Silveira *et al.*, 2015). A patologia é causada por protozoários intraeritrocitários do gênero *Babesia*, como *B. canis* (*canis* e *vogeli*) e *B. gibsoni*, parasitando eritrócitos e destruindo células sanguíneas, levando a uma série de manifestações clínicas (Dantas-Torres, 2008). A infecção ocorre quando o carrapato infectado fixa-se e inicia a alimentação no hospedeiro, transmitindo esporozoítos através da saliva que invadem a corrente sanguínea e se alojam nos eritrócitos, onde se multiplicam. Esse processo causa a lise dos eritrócitos do hospedeiro, resultando em sintomas como febre, perda de apetite, icterícia, taquicardia e hemoglobinúria (Taylor *et al.*, 2010). O quadro clínico do hospedeiro pode se tornar crônico, porém em casos graves, complicações como insuficiência renal, hepatopatia e coagulação intravascular disseminada já foram relatadas (De Araujo, 2022).

Os sintomas da babesiose canina podem variar de acordo com o estágio da doença, que pode ser aguda, crônica ou subclínica. Na fase aguda, a infecção se manifesta de forma mais evidente, com sinais como febre alta, icterícia e taquicardia. Já na forma crônica, os sintomas podem ser menos pronunciados, mas o parasita continua presente no organismo, ainda que numa menor concentração, alojado em órgãos como o baço e o fígado (O'Dwyer e Massard, 2002). Em muitos casos, a doença permanece subclínica, ou seja, os cães infectados não apresentam sintomas evidentes, mas continuam a ser reservatórios do parasita, o que pode dificultar o diagnóstico. Também é possível a coinfecção com outros hemoparasitas, como *Anaplasma spp.*, *Ehrlichia spp.* e *Leishmania spp.*, o que agrava ainda mais o quadro clínico, tornando o manejo da babesiose um desafio (De Araujo, 2022).

Portanto, o controle da infestação por carrapatos é uma estratégia essencial para a prevenção da babesiose e outras parasitoses causadas por este vetor (Taylor *et al.*, 2010). Além disso, a detecção precoce da infecção é fundamental para o tratamento eficaz, mas os métodos diagnósticos disponíveis atualmente ainda apresentam limitações, como alta complexidade, custo elevado ou sensibilidade

insuficiente, o que pode resultar em diagnósticos incorretos e tratamento inadequado.

Nesse contexto, busca-se desenvolver novas metodologias diagnósticas para babesiose canina, utilizando as ferramentas da imunoinformática. Entre as aplicações mais promissoras da bioinformática está a imunoinformática, que combina a biologia molecular com a busca por antígenos e componentes imunogênicos. Essa abordagem é essencial para o desenvolvimento e inovação em novos testes diagnósticos mais precisos.

A imunoinformática oferece uma abordagem inovadora para a identificação de antígenos-chave, que podem ser explorados tanto para o diagnóstico quanto para o desenvolvimento de vacinas e tratamentos. O desenvolvimento *in silico* da investigação pode revolucionar o manejo de doenças parasitárias como a babesiose, permitindo um diagnóstico mais rápido e preciso, além de abrir caminho para novas terapias.

A proposta é identificar peptídeos imunogênicos com potencial para serem utilizados em testes de imunodiagnóstico mais precisos (Munteanu, 2019). Esses peptídeos, selecionados por meio de uma abordagem *in silico*, serão testados para verificar sua capacidade de melhorar a sensibilidade e a especificidade dos diagnósticos, evitando a ocorrência de falsos positivos ou negativos.

O projeto também prevê a coleta de amostras de carrapatos portadores e a análise do DNA de *Babesia spp.* em diferentes fases do ciclo biológico do parasita. Através do sequenciamento genômico dessas amostras, pretende-se verificar se os peptídeos selecionados a partir da imunoinformática são realmente expressos nas cepas de *Babesia spp.* circulantes nos animais infectados em nossa região. Dessa forma, espera-se que os resultados obtidos possam contribuir para o desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas e terapêuticas, melhorando o controle da babesiose canina.

2. METODOLOGIA

Será criado um banco de dados relacional com sequências de nucleotídeos do National Center for Biotechnology Information (NCBI), avaliando suas características para a predição de epítópos de células B. Para elucidar as interações proteína-proteína, será utilizado um algoritmo com redes de interação baseadas em babesia, levando a sua visualização em software específico. Peptídeos serão confrontados com proteínas de parasitas como *Leishmania major* e *Trypanossoma cruzi* via BLASTp, eliminando proteínas com mais de 60% de similaridade a bovinos e equinos a fim de reduzir a possibilidade de reatividade cruzada. A atracagem molecular será realizada usando o servidor específico, seguido de dinâmica molecular com GROMACS para simulação e análise da estabilidade dos complexos peptídeo-proteína. Amostras de carrapatos portadores das cepas de babesias caninas e serão processadas para detecção do parasito via PCR e sequenciamento, com o objetivo de verificar se os peptídeos selecionados *in silico* são sintetizados nas cepas presentes, visando um futuro teste diagnóstico.

3. AVALIAÇÃO INICIAL E RESULTADOS ESPERADOS

Sabe-se que a *Babesia vogeli* é hoje altamente detectada no Brasil e a mais prevalente dentre as cepas em nosso território, causando quadros moderados e mantendo a parasitemia persistente na comunidade (De Oliveira *et. al.*, 2023). Caso avaliarmos as proteínas desta cepa com utilizando o BLAST do NCBI e as sequências de proteínas obtidas na plataforma UniProt, pode-se selecionar aquelas com similaridade superior a 75% em cepas de *Babesia canis* e *Babesia gibsoni* conforme Tabela 1, ou seja, as sequências-alvo que serão tratadas *in silico* poderão ser avaliados como alvos para o diagnóstico de babesiose canina de modo geral.

Tabela 1: Avaliação de similaridade de proteínas de *B. vogeli* em *B. canis* e *B. gibsoni* por BLAST no NCBI.

Proteínas de <i>Babesia vogeli</i>		Similaridade com <i>B. canis</i>		Similaridade com <i>B. gibsoni</i>	
<i>Nome de Entrada UniProt</i>	<i>Nome da Proteína</i>	<i>Query Coverage</i>	<i>% de Identidade</i>	<i>Query Coverage</i>	<i>% de Identidade</i>
W8CJV0_9APIC	Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	100%	93,38%	97%	88,24-89,04%
A0A1B3P5G9_9APIC	Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	100%	81,95%	97-100%	79,23-79,70%
A0A5C0NSN3_9APIC	Cytochrome b (Fragment)	99%	84,03%	89-97%	79,27-73,46%
W8CJI8_9APIC	Cytochrome b (Fragment)	100%	84,30%	80-100%	78,37-82,87%
B9WZA0_9APIC	T-complex protein 1 subunit eta	98%	83,85%	--	--
W8CJT0_9APIC	Cytochrome c oxidase subunit 3	95%	87,25%	81-95%	75,49-78,92%
A0A2Z5FN31_9APIC	Heat shock protein 70 (Fragment)	100%	100%	100%	87,97-97,74%
A0A2Z5FN46_9APIC	Heat shock protein 70 (Fragment)	100%	98,46%	100%	93,85-96,15%
A0A2Z5FN57_9APIC	Heat shock protein 70 (Fragment)	100%	100%	100%	94,78-97,39%
A0A2Z5FNF1_9APIC	Heat shock protein 70 (Fragment)	100%	99,15%	100%	95,73-96,58%
A0A5J6XZ17_9APIC	Heat shock 70 kDa protein (Fragment)	100%	96,46%	100%	91,32-95,18%
A5HFU9_9APIC	Heat shock 70 kDa protein	94%	95,11%	88-94%	89,49-95,62%
Q0WY91_9APIC	Heat shock 70 kDa protein	94%	95,43%	88-94%	89,83/95,97%
Q0WY92_9APIC	Heat shock 70 kDa protein (Fragment)	94%	95,43%	88-94%	89,83/95,80%

Vale destacar que na plataforma Uniprot encontram-se depositadas 15 proteínas de *Babesia vogeli*, 58 proteínas de *Babesia canis* e 3.802 proteínas de *Babesia gibsoni* que, devido ao amplo volume de dados, é necessário tratá-los com a utilização de softwares da bioinformática.

O resultado primário será a identificação de peptídeos que apresentam alto potencial para uso em testes de imunodiagnóstico. Isso será alcançado por meio da

análise das sequências de proteínas existentes e da aplicação de técnicas de ancoragem molecular.

Ao desenvolver novos testes imunodiagnósticos com base nos peptídeos identificados, o projeto visa melhorar a confiabilidade e o desempenho do diagnóstico da babesiose canina, levando a um melhor manejo da doença.

As descobertas contribuirão para o campo da saúde única, fornecendo novas ferramentas para a detecção precoce e o tratamento da babesiose, melhorando a saúde e bem-estar animal, além de evitar erros diagnósticos que apontam a falsos positivos de zoonoses, como a leishmaniose.

4. PERSPECTIVAS FUTURAS

O projeto também estabelecerá as bases para estudos futuros em imunoinformática e suas aplicações em outras doenças infecciosas, promovendo novos avanços no diagnóstico veterinário.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dantas Torres, F. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites & Vectors**. v. 1, p. 1-17, 2008.

De Araújo, R. Avaliação diagnóstica das hemoparasitoses em cães: Revisão. **Pubvet**, v. 16, n. 10, 2022

De Oliveira, C.M; Yang T.S.; Duarte, M. A.; Marr H., McManus, C.M.; André, M.R.; Birkernheuer, A.J.; Paludo, G.R. Canine piroplasmids: Molecular detection and laboratory characterization in dogs from Brasilia, Brazil, with the first molecular evidence of dog exposure to a novel opossum-associated Babesia sp., **Ticks and Tick-borne Diseases**. v. 14, 2023.

De Vargas e Bastos, C; Moreira, S.M.; Passos, L.M.F.. Retrospective Study (1998-2001), **Canine Babesiosis**. Annals of the New York Academy of Sciences, v. 1026, n. 1, p. 158-160, 2004

Munteanu, C.R. Improvement of epitope prediction using peptide sequence descriptors and machine learning. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 20, n. 18, 2019.

O'Dwyer, L.H.O.; Massard, C.L. Babesiose em pequenos animais domésticos e como zoonoses. In: ALMOSNY, N. R. P. **Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses**. L.F. Livros de Veterinária. Rio de Janeiro, p.57-67, 2002.

Silveira, J.A.G.; Valente, P.C.L.G; Paes, P.R.O.; Vasconcelos, A.V.; Silvestre, B.T.; Ribeiro, M.F.B.; **The first clinical and laboratory evidence of co-infection by Anaplasma phagocytophilum and Ehrlichia canis in a Brazilian dog**. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, ed. 3, p 242-245. 2015.

Taylor, M. A.; Coop, R. L.; Wall, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 3a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.