

CIRCULAR TÉCNICA

n. 393 - dezembro 2023

ISSN 0103-4413

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Departamento de Informação Tecnológica
Av. José Cândido da Silveira, 1647 - União - 31170-495
Belo Horizonte - MG - www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000



AGRICULTURA,
PECUÁRIA E
ABASTECIMENTO



MINAS
GERAIS

GOVERNO
DIFERENTE.
ESTADO
EFICIENTE.

Orientações para coleta de sangue para diagnóstico de hemoparasitoses em bovinos (*Trypanosoma*, *Babesia* e *Anaplasma*)¹

Daniel Sobreira Rodrigues²
Gabriel Henrique Santos Silveira³
João Paulo Soares Alves⁴
Elizabeth Pereira Barbosa⁵
Julia Angélica Gonçalves Silveira⁶
Romário Cerqueira Leite⁷

INTRODUÇÃO

O Laboratório de Parasitologia Veterinária da EPAMIG Centro-Oeste - Campo Experimental Santa Rita (CESR), Prudente de Morais, MG, tem a finalidade de dar suporte a estudos cujo objetivo é desenvolver tecnologias para o controle de ecto e endoparasitoses de animais de produção.

A pecuária bovina desempenha um papel fundamental na economia de diversas regiões do mundo, não apenas por sua contribuição na produção de carne e leite, mas também por gerar desafios significativos relacionados com a saúde e o bem-estar dos animais. Um dos desafios que merecem destaque diz respeito às hemoparasitoses, um grupo de doenças que afetam o gado bovino e podem trazer consequências significativas na produtividade e no bem-estar do rebanho. Dentre as hemoparasitoses mais comuns em bovinos, destacam-se *Trypanosoma* spp., *Babesia* spp. e *Anaplasma* spp.

Esta Circular Técnica foi elaborada com o objetivo de fornecer diretrizes atualizadas para a coleta de sangue em bovinos, visando o diagnóstico laboratorial de hemoparasitoses.

HEMOPARASITOSE

O *Trypanosoma vivax* é o protozoário causador da tripanosomose bovina, transmitida principalmente por moscas tsé-tsé (Diptera: Glossinidae), na África. No Brasil, o agente é transmitido de forma mecânica por dípteros hematófagos, como a mutuca (Diptera: Tabanidae), a mosca-do-curral (*Stomoxys calcitrans*) e a mosca-do-chifre (*Haematobia irritans*), e também por meio do uso de agulhas contaminadas. A Tristeza Parasitária Bovina (TPB) é um complexo de doenças que pode ocorrer de forma isolada ou em associação. Os agentes etiológicos no Brasil incluem principalmente a bactéria *Anaplasma marginale* e os protozoários *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*. O carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus microplus*, é o principal transmissor biológico desses agentes. Além disso, *A. marginale* também pode ser transmitida de forma mecânica, por moscas e mosquitos hematófagos e fômites. A transmissão transplacentária desses agentes também pode ocorrer, sendo que *A. marginale* vem-se destacando na literatura com taxas expressivas desse modo de infecção. À medida

¹Circular Técnica produzida pela EPAMIG Centro-Oeste, (31) 99589-7387, epamigcentrooeste@epamig.br.

²Médico-veterinário, D.Sc., Pesq. EPAMIG Centro-Oeste - CESR, Prudente de Morais, MG, dsrodrigues@epamig.br.

³Médico-veterinário, Mestrando Sanidade e Produção Animal nos Trópicos UNIUBE, Uberaba, MG, gabrielhenrique@gmail.com.

⁴Médico-veterinário, Mestrando Ciência Animal UFMG - Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, joaopsavet@gmail.com.

⁵Técnica Química/Bióloga, EPAMIG Centro-Oeste - CESR, Prudente de Morais, MG, elizabeth.barbosa@epamig.br.

⁶Médica-veterinária, D.Sc., Profª UFMG - Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, jags@ufmg.br.

⁷Médico-veterinário, D.Sc., Prof. Aposentado UFMG - Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, romarioleite@gmail.com.

que a pecuária bovina transforma-se em uma atividade cada vez mais interconectada, o risco de disseminação de hemoparasitoses torna-se uma preocupação crescente. O diagnóstico preciso dessas hemoparasitoses é fundamental para a tomada de decisões em saúde animal, implantação de estratégias de prevenção e controle.

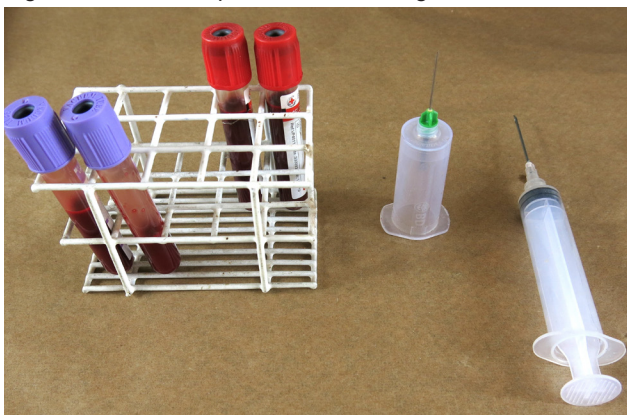
Diagnóstico

O diagnóstico de espécies de *Babesia*, *Anaplasma* e *Trypanosoma* pode ser realizado por meio de pesquisa direta do parasito ou do seu material genético, e, indiretamente, por meio de identificação de anticorpos específicos no soro dos animais.

Para o diagnóstico direto, deve ser utilizado o sangue total. Para isso, é necessário evitar a coagulação do sangue, o que é feito por meio de anticoagulante, sendo o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), colocado em tubos de coleta de tampa roxa/lilás, preferencial para realização de técnicas moleculares, como a reação em cadeia de polimerase – polymerase chain reaction (PCR). Esse material coletado deve ser mantido resfriado até o momento da realização dos testes de laboratório, por um prazo máximo de 24 horas. Em caso de demora no envio, deve-se congelar o material e enviá-lo sob refrigeração.

Para o diagnóstico indireto é o inverso, sendo necessária a coagulação do sangue para promover a separação do soro e possibilitar a sua coleta e análise. Nesse caso, são utilizados tubos de coleta de tampas vermelhas, sem anticoagulante (Fig. 1).

Figura 1 - Materiais para coleta de sangue



Nota: Tubos de coleta de sangue com anticoagulante (tampa roxa) e sem anticoagulante (tampa vermelha); canhão com agulha para coleta a vácuo e seringa de 20 mL com agulha hipodérmica 40 x 1,2 mm, para coleta convencional.

COLETA DE SANGUE

As análises de sangue desempenham um papel fundamental no suporte ao diagnóstico clínico. Um estudo realizado em uma fazenda leiteira brasileira para avaliar o monitoramento da TPB, com um protocolo padrão, no qual todos os bezerros com aumento de 0,5 °C na temperatura retal foram tratados para *Anaplasma* spp. e *Babesia* spp., demonstrou o uso excessivo de medicamentos. Com esse resultado, foi indicada a implementação de um protocolo de monitoramento da TPB com base em ferramenta de microscopia, com benefícios que incluem uso racional de medicamentos, potencial de geração de economia e redução de taxas de morbidade e mortalidade, além de possibilitar outros diagnósticos.

Antes de proceder a coleta de sangue para a realização de exames laboratoriais, é essencial estar ciente, controlar e minimizar as variáveis que podem comprometer a precisão dos resultados, tais como:

- identificação correta da amostra com a definição do animal (identificação, sexo, idade), data e procedência de coleta;
- etiquetas de identificação resistentes e informações legíveis;
- incluir dados adicionais, como suspeita clínica e o lote dos animais, contribui para um diagnóstico laboratorial bem-sucedido;
- amostras de sangue devem manter composição e integridade durante o manuseio, o transporte e o armazenamento.

Coleta de sangue com seringa e agulha

Procedimentos para coleta do sangue:

- acoplar a agulha na seringa, mantendo a capa protetora;
- movimentar o êmbolo da seringa para frente e para trás, a fim de eliminar o ar no interior;
- realizar a antisepsia do local escolhido para punção, com algodão e álcool 70%;
- realizar o garrote no local e remover a capa protetora da agulha;
- introduzir a agulha na veia e puxar o êmbolo da seringa lentamente, permitindo que o sangue flua para dentro da seringa;
- soltar o garrote após a coleta; retirar a agulha da seringa e transferir cuidadosamente o sangue para um tubo com ou sem anticoagulante;

- g) descartar a agulha e a seringa em um recipiente apropriado para objetos perfurocortantes.

Coleta de sangue com sistema a vácuo

Procedimentos para coleta do sangue:

- rosquear a agulha no suporte para coleta a vácuo, mantendo a capa protetora;
- realizar a antisepsia do local escolhido para punção, com algodão e álcool 70%;
- realizar o garrote e remover a capa protetora da agulha;
- puncionar a veia com o bisel voltado para cima e acoplar o tubo no adaptador;
- esperar o sangue parar de fluir para dentro do tubo; soltar o garrote e, em seguida, retirar o tubo e a agulha, e separar a agulha do adaptador;
- descartar a agulha em um recipiente apropriado para objetos perfurocortantes.

ESFREGAÇO SANGUÍNEO

Para a confecção do esfregaço sanguíneo deve-se coletar uma gota de sangue periférico do bovino com agulha fina, em veias localizadas na ponta da cauda ou da orelha (Fig. 2).

Para formar o esfregaço, distende-se suavemente a gota de sangue coletada sobre uma lâmina para microscopia ao longo de todo seu comprimento,

com o auxílio de outra lâmina em um ângulo de 45° (Fig. 3). O esfregaço deve ser de espessura fina e com formação de franja estriada em sua porção final. Após a confecção do esfregaço, a lâmina deve ser identificada e conservada em local fresco e sem a presença de moscas até a secagem. Depois de seca, a lâmina deve ser armazenada em porta-lâminas ou envolta em folha de papel e encaminhada para o laboratório.

Em contrapartida, uma amostra de sangue pode ser coletada das veias jugular, coccígea ou mamária do bovino (Fig. 4). Imediatamente após a coleta, uma gota de sangue contida na seringa pode ser utilizada para a confecção do esfregaço.

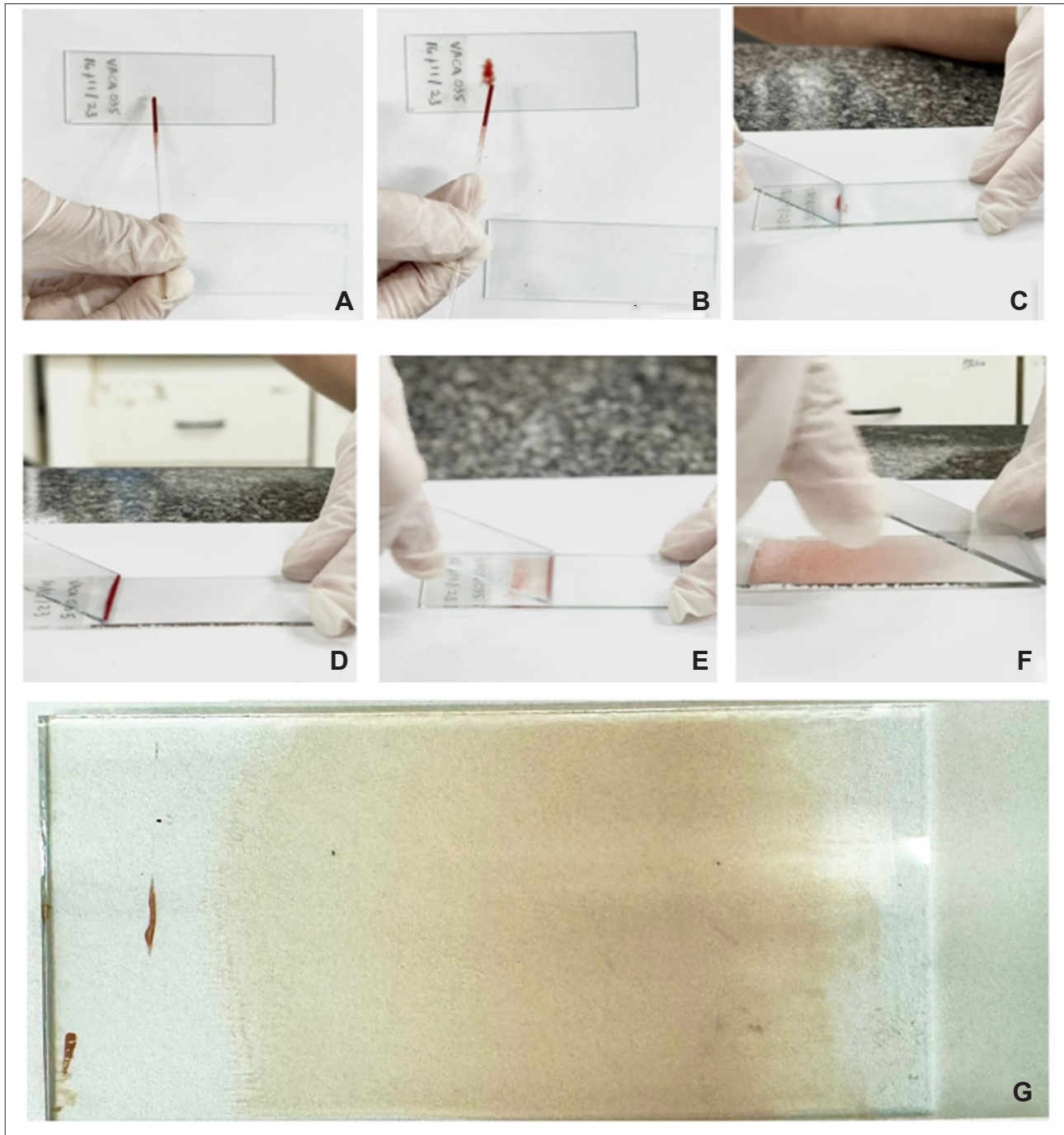
Quando isso não for possível, pode ser enviado ao laboratório o sangue total em um tubo contendo anticoagulante (tampa roxa), como o ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA). Neste caso, a coleta pode ser realizada diretamente no tubo, por meio de sistema a vácuo, ou ser transferido para este, quando o sangue for obtido por meio de seringa e agulha. Entretanto, a agulha deve ser retirada da seringa e a transferência deve ser realizada de forma lenta, para evitar o comprometimento das hemácias (Fig. 5). O sangue coletado deve ser mantido sob refrigeração e encaminhado para pesquisa de hemoparasitos em no máximo 24 horas. Além disso, deve-se evitar o contato com água. Tanto o material de coleta de sangue quanto o de acondicionamento do esfregaço devem ser mantidos secos.

Figura 2 - Coleta de sangue periférico da ponta da orelha (à esquerda) e da ponta da cauda (à direita) do bovino, para confecção de esfregaço sanguíneo



Fotos: Daniel Sobreira Rodrigues

Figura 3 - Sequência de procedimentos para a confecção de um esfregaço sanguíneo adequado



Fotos: João Paulo Soares Alves

Nota: A e B - Deposição da gota de sangue; C a E - Realização do esfregaço, com auxílio de outra lâmina; F e G - Finalização e amostra pronta.

Figura 4 - Coleta de sangue da veia jugular, mamária e coccígea (da esquerda para a direita) por meio de sistema de coleta a vácuo



Fotos: Daniel Sobreira Rodrigues

Figura 5 - Coleta de sangue da veia jugular (à esquerda), por meio de seringa de 20 mL e agulha hipodérmica 40 x 1,2 mm, e transferência do sangue para o tubo com anticoagulante EDTA (à direita)



Nota: EDTA - Etilenodiamino tetra-acético.

Fotos: Daniel Sobreira Rodrigues

SORO

Para obtenção do soro sanguíneo, a amostra de sangue deve ser colocada em um tubo sem anticoagulante e mantida à temperatura ambiente, aguardando o tempo necessário para a formação do coágulo, que pode durar entre 30 e 180 minutos (Fig. 6). Uma vez que o coágulo é formado, o soro deve ser transferido para outro recipiente com tampa de rosca ou microtubos do tipo “Eppendorf”. O soro coletado deve ser mantido sob refrigeração (0 °C – 4 °C) e encaminhado para realização da sorologia, em um prazo máximo de 24 horas. Em caso de demora no envio, deve-se congelar o material e evitar o seu descongelamento até o momento da chegada ao laboratório.

Figura 6 - Amostras de sangue após a formação do coágulo e separação do soro



Nota: À esquerda, o soro apresenta aspecto límpido e coloração amarelada, desejável.

À direita, o soro apresenta aspecto ligeiramente turvo e coloração avermelhada, indicando que ocorreu o comprometimento de hemácias (hemólise).

Daniel Sobreira Rodrigues

idades gestacionais oriundos de abatedouro.

2021. 179f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

CENCI, A. *et al.* **Manual de coleta e remessa de amostras para diagnóstico laboratorial veterinário.** Porto Alegre: FEPAGRO, 2011. 86p. (FEPAGRO. Boletim Técnico, 20).

COELHO, M.F. **Epidemiologia da tristeza parasitária bovina em diferentes 621 categorias de bovinos de corte em confinamento e avaliação da transmissão vertical.** 2022. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2022.

FETENE, E. *et al.* Global distribution, host range and prevalence of *Trypanosoma vivax*: a systematic review and meta-analysis. **Parasites & Vectors**, v.14, p.2-20, 2021. Article 80.

MELO JUNIOR, R.D. de *et al.* How many cattle can be infected by *Trypanosoma vivax* by reusing the same needle and syringe, and what is the viability time of this protozoan in injectable veterinary products? **Parasitology**, v.149, n.2, p.270-282, Feb. 2022.

PUNTES, J.D.; RIET-CORREA, F. Epidemiological aspects of cattle tick fever in Brazil = Aspectos epidemiológicos da tristeza parasitária bovina no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.32, n.1, 2023. e014422.

SOUZA, R.S. *et al.* Monitoring bovine tick fever on a dairy farm: an economic proposal for rational use of medications. **Journal of Dairy Science**, v.104, n.5, p.5643-5651, May 2021.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

ANDRADE, L.S. de. **Infecção por hemoparasitos e *Neospora caninum* em fetos bovinos de diferentes**

Disponível em: <https://www.livrariaepamig.com.br/difusao-de-tecnologia/circular-tecnica/>
Departamento de Informação Tecnológica