

## 16. DETECÇÃO DE *EHRlichia CANIS* EM TECIDOS DE CÃES E CARRAPATOS *Rhipicephalus Sanguineus* EM ÁREAS ENDÊMICAS PARA ERLIQUIOSE MONOCÍTICA CANINA NO BRASIL

Detection of *Ehrlichia canis* in tissues from dogs and *Rhipicephalus sanguineus* ticks in endemic areas for canine monocytic ehrlichiosis in Brazil

OLIVEIRA; B. C. M.<sup>1</sup>; VIOL, M. A.<sup>2</sup>; INÁCIO, S. V.<sup>3</sup>; FERRARI, E. D.<sup>4</sup>; NAGATA, W. B.<sup>1</sup>; ANDRÉ, M. R.<sup>5</sup>; BRESCIANI, K. D. S.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Unesp, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Araçatuba, São Paulo

<sup>2</sup>Doutora do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Unesp, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Araçatuba, São Paulo

<sup>3</sup>Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Unesp, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Araçatuba, São Paulo

<sup>4</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Unesp, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Araçatuba, São Paulo

<sup>5</sup>Professor assistente da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo

<sup>6</sup>Professora adjunta do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal (Dapsa), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Araçatuba, São Paulo

A erliquiose canina apresenta elevada ocorrência na rotina da clínica médica de pequenos animais. O agente etiológico multiplica-se nas células epiteliais do intestino, nos hemócitos e nas células das glândulas salivares do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. O objetivo do nosso estudo foi detectar molecularmente *Ehrlichia canis* em amostras de linfonodos e medulas ósseas de cães e nos intestinos, ovários e glândulas salivares de seus respectivos carrapatos. Assim, 720 artrópodes fêmeas (10 de cada animal) foram removidos dos 72 cães examinados. Em seguida, foram efetuadas punções aspirativas de linfonodos e medulas ósseas. Após a dissecação dos carrapatos, seus órgãos (intestinos, ovários e glândulas salivares) e as amostras puncionadas de linfonodos e medulas ósseas dos cães foram testados por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (nested-PCR) para amplificação do gene 16S do

ácido ribonucleico ribossomal (rRNA), e também por meio da PCR em Tempo Real Quantitativa (qPCR) para *Ehrlichia canis*, baseada em um fragmento do gene dsb. A detecção desta infecção por meio da nested-PCR foi de 80,5% nos linfonodos e 44,4% nas medulas ósseas, havendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Já em relação às nested-PCRs dos órgãos dos carrapatos, observamos positividade de 22% nos intestinos, 11% nos ovários e 7% nas glândulas salivares. Na qPCR a detecção foi de 70,8% e 44,4% nos linfonodos e medulas ósseas, respectivamente ( $p < 0,05$ ) e 31,9% nos intestinos, 10% nos ovários e 15,2% nas glândulas salivares dos carrapatos estudados. As cargas parasitárias médias nos linfonodos foram de 1473,79 *Ehrlichia*/μL, nas medulas ósseas de 2080,09 *Ehrlichia*/μL, e nos intestinos, ovários e glândulas salivares as quantificações foram de 1211,53 *Ehrlichia*/μL, 2602,01 *Ehrlichia*/μL e de 49,23 *Ehrlichia*/μL respectivamente. Assim, houve maior detecção molecular em linfonodos tanto na nested-PCR quanto na qPCR, e a bactéria estava presente em níveis quantificáveis pela primeira vez em ovários dos artrópodes.

### Referências

- ANDEREG, P. I.; PASSOS, L. M. F. Erliquiose canina: revisão. **Clínica Veterinária**, v. 4, n. 19, p. 31-38, 1999.
- DOYLE, C. K. et al. Detection of medically important *Ehrlichia* by quantitative multicolor Taq-Man Real Time PCR of the dsb gene. **Journal of Molecular Diagnostics**, v. 7, p. 504-510, 2005.
- ISOLA, J. G. M. P.; CADIOLI, F. A.; NAKAGE, A. P.; Erliquiose canina: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano 9, n. 18, jan. 2012.
- MURPHY, G. L. et al. A molecular and serological survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. **Veterinary Parasitology**, v. 79, p. 325-339, 1998.

## 17. AUTOMATIZAÇÃO DO DIAGNÓSTICO DE PARASITOS GASTROINTESTINAIS DE HUMANOS E ANIMAIS

Automation of the diagnosis of gastrointestinal parasites of humans and animals

ROSA, S. L.<sup>1</sup>; SANTOS, B. M.<sup>2</sup>; SOARES, F. A.<sup>3</sup>; SUZUKI, C. T. N.<sup>4</sup>; BRESCIANI, K. D. S.<sup>5</sup>; FALCÃO, A. X.<sup>6</sup>; GOMES, J. F.<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Unicamp e Pesquisadora do Laboratory of Image Data Science (LIDS) do Instituto de Computação da Unicamp, Campinas, São Paulo. E-mail: sterosa90@gmail.com

<sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da

Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Unicamp e Pesquisadora do Laboratory of Image Data Science (LIDS) do Instituto de Computação da Unicamp, Campinas, São Paulo.

<sup>3</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Unicamp e Pesquisador do Laboratory of Image Data Science (LIDS) do Instituto de Computação da Unicamp, Campinas, São Paulo.

<sup>4</sup>Pesquisador do Laboratory of Image Data Science (LIDS) do Instituto de Computação da Unicamp, Campinas, São Paulo.

<sup>5</sup>Professora livre-docente da Faculdade de Medicina Veterinária da Unesp, Araçatuba, SP.

<sup>6</sup>Professor Titular do Instituto de Computação da Unicamp e coordenador do Laboratory of Image Data Science (LIDS) do Instituto de Computação da Unicamp, Campinas, São Paulo.

<sup>7</sup>Professor pleno do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Unicamp e pesquisador colaborador e coordenador do Laboratory of Image Data Science (LIDS) do Instituto de Computação da Unicamp, Campinas, São Paulo.

Em muitos países de climas tropical, subtropical e equatorial, as parasitoses gastrointestinais humanas e animais constituem um sério problema de saúde pública. O diagnóstico dos agentes etiológicos destas parasitoses comumente requer a análise visual, mediante uso de microscopia, de material fecal processado por técnicas convencionais parasitológicas e/ou kits comerciais. No entanto, relatos científicos têm demonstrado que estas técnicas e/ou kits podem comprometer esta modalidade de exame por demonstrarem baixas e moderadas sensibilidades diagnósticas. Uma proposta inédita para solucionar este tipo de problema é a automatização do exame de parasitos gastrointestinais de humanos e

animais. Para isto, com o auxílio irrestrito da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, um complexo sistema de diagnóstico automatizado (protótipo) passa por fases de desenvolvimento e validações no Laboratory of Image Data Science (LIDS) da Universidade Estadual de Campinas, sendo este composto por: técnica parasitológica de alta sensibilidade (Three Fecal Test Modified); computador (com novos métodos de análises de imagens); e um sistema personalizado composto por câmera digital de alta resolução, tubo óptico e platina motorizada. Até o presente momento, o protótipo em desenvolvimento é capaz de fazer a varredura completa de uma lâmina em até três minutos (cerca de 2.000 campos de imagens) com avanços obtidos em estudos usando um conjunto de dados de imagens com 1.791 parasitos e 6.068 detritos fecais. Nesta condição, o sistema automatizado proposto alcançou 93% da sensibilidade média, 99,17% da especificidade média e *kappa* média de 0,84. Ademais, novas técnicas parasitológicas em desenvolvimento – por meio de um projeto de pós-doutorado (temático Fapesp) vigente na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista e dois projetos de doutorado e um de mestrado, vigentes na Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas – poderão ser integradas futuramente a fim de aprimorar o diagnóstico do mencionado sistema automatizado. Os resultados atuais sugerem que o sistema em desenvolvimento é uma solução viável para melhorar o diagnóstico de parasitos gastrointestinais de humanos e animais, produzindo, de forma única, resultados com imagens desses parasitos.

### Referências

CARVALHO, J. B. et al. TF-Test Modified: new diagnostic tool for human enteroparasitosis. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 1, p. 1-8, 2015.

FALCÃO, A. X. et al. **A system for diagnosing intestinal parasites by computerized image analysis**. Depositante: Universidade Estadual de Campinas. WO2008/064442.