

ACOMPANHAMENTO DA CARGA PARASITÁRIA DE *Rhipicephalus microplus* E PREVALÊNCIA DE HEMOPARASITAS EM BOVINOS A CAMPO

CAMILE LARISSA DA LUZ GASPERIM¹; ÁDINA DA SILVA DE MOURA²;
DANIELA APARECIDA MOREIRA³; ESTEFANI RINALDI⁴; PAOLA RENATA
JOANOL DALLMANN⁵; RODRIGO CASQUERO CUNHA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – gasperimcamile@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – adinasilva124@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – danikmoreira.vet@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – estefanirinaldi@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – dallmannpaola@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rodrigocunha_vet@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A tristeza parasitária bovina (TPB) é uma doença complexa causada pela associação de agentes como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*, transmitidos pelo carrapato *Rhipicephalus microplus*, apontado na literatura como principal vetor destes agentes causadores da enfermidade (SILVA; PEREIRA, 2022). Além disso, estima-se que este carrapato é responsável por causar perdas diretas e indiretas de R\$18.984.000/ano no estado do Rio Grande do Sul (OLIVEIRA et al., 2017). O diagnóstico da doença normalmente se dá de forma clínica, por meio da observação de sinais clínicos e da anamnese feita pelo profissional. No entanto, ferramentas complementares de diagnóstico, como reação em cadeia da polimerase (PCR), são importantes na determinação etiológica da enfermidade, bem como no tratamento efetivo para o agente diagnosticado. Assim, o presente trabalho, que faz parte de um projeto de pesquisa sobre a dinâmica populacional do carrapato *R. microplus* (COBALTO nº7637), em conjunto com o projeto de desenvolvimento de vacina contra *R. microplus* (COBALTO nº3948), teve como objetivo fazer o acompanhamento da dinâmica de hemoparasitas que causam TPB, por método de PCR em tempo real, bem como relacionar essa dinâmica com a carga parasitária dos bovinos ao longo de um ano, na região do Capão do Leão, RS.

2. METODOLOGIA

A pesquisa aconteceu nas dependências da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), sendo a parte de campo no Centro Agropecuário da Palma (CAP), em 2,3 hectares onde se mantinham, em pasto nativo, três novilhas Angus com idade de 24 meses. Nesses animais ocorreram as contagens de carrapatos e as coletas de amostras sanguíneas a cada 18 dias, de acordo com o ciclo de vida do carrapato. No entanto, as análises deste estudo foram a cada 36 dias, fechando o tempo de duas coletas e duas fases parasitárias (BOGO et al., 2021). A contagem dos carrapatos foi realizada de um lado do animal, considerando carrapatos a partir de 4mm de comprimento como contáveis, e multiplicado por dois para ter o número absoluto. A infestação foi categorizada de 1 a 4 conforme metodologia proposta por FRAGA et al. (2003), e adaptada ao presente estudo. Animais sem parasitas contáveis/palpáveis ou com até 50 carrapatos foram considerados com categoria

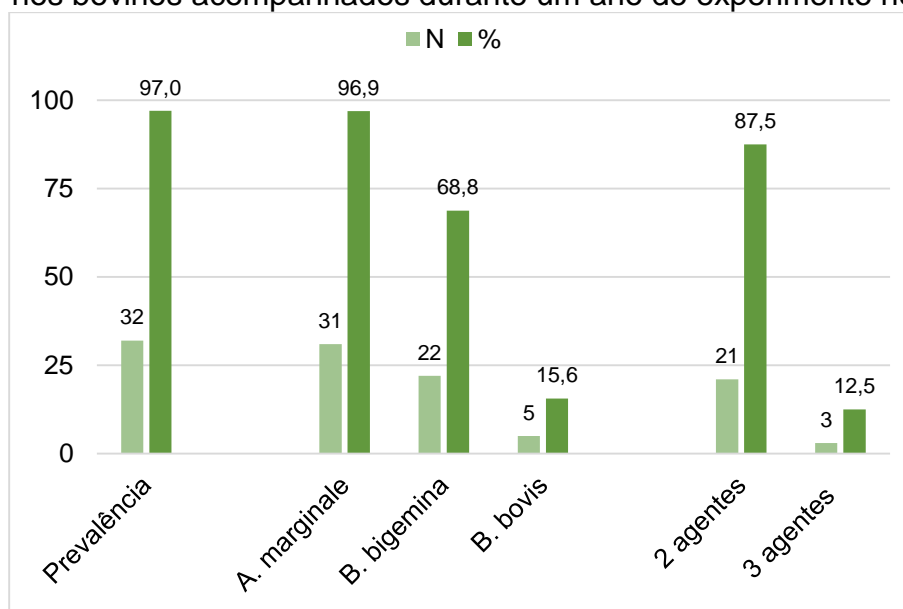
igual a 1 (C1); a categoria 2 (C2) se dava para infestação de 51 a 100 carrapatos; categoria 3 (C3) tinha uma contagem de 101 a 150 carrapatos e, por fim, a categoria 4 (C4) para uma infestação muito alta com mais de 150 carrapatos.

As coletas de sangue foram realizadas da veia coccígea, em tubos a vácuo, com anticoagulante EDTA. Após, o sangue foi aliquotado em 600 µL em microtubos de 1,5 mL e armazenados em temperatura de -20 °C, até a extração de DNA para análise molecular no Laboratório Biologia Molecular Veterinária da UFPEL (LaBMol-vet). Para extração de DNA total foi utilizado o método químico com o reagente Brazol™, seguindo as orientações do fabricante. A concentração e a pureza foram analisadas utilizando espectrofotômetro de luz UV, NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts, USA), sendo utilizadas as amostras com pureza acima de 1,8 e concentração de mínima de DNA de 25 ng/µL. A reação foi preparada utilizando 5 µL de GoTaq qPCR MasterMix (PROMEGA Inc, WI, EUA), 10 µM de cada primer e 50 ng de DNA amostral.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

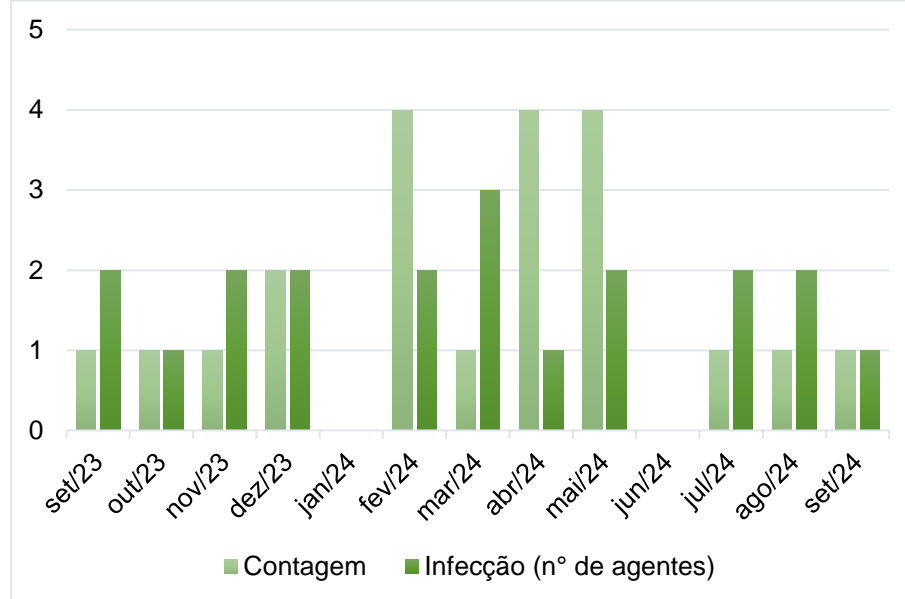
Durante um ano de observação, das 33 amostras coletadas, 97% (32) apresentaram pelo menos um dos agentes etiológicos da TPB. Entre as amostras positivas, *Anaplasma marginale* foi detectado em 97% dos casos (31/32), *Babesia bigemina* em 69% (22) e *Babesia bovis* em 15,6% (5). Verificou-se coinfeção em 24 amostras, sendo a associação mais frequente entre *B. bigemina* e *A. marginale*, presente em 87,5% (21) das amostras, conforme Figura 1.

Figura 1. Prevalência de amostras positivas, coinfeções e agentes detectados na PCR, nos bovinos acompanhados durante um ano de experimento no CAP.



O período em que os animais estiveram mais parasitados correspondeu aos meses de fevereiro, abril e maio de 2024, onde a infestação das novilhas se manteve em categoria 4 ($n^{\circ} > 150$ carrapatos). O mês de março foi onde se observou a presença dos três agentes concomitantemente. Os meses de setembro, novembro e dezembro de 2023 houve a ocorrência de dois agentes, já em 2024, os meses foram fevereiro, maio, julho e agosto (Figura 2).

Figura 2. Contagem de carrapatos em categorias (1, 2, 3, 4) e infecção classificadas pelo número de agentes que ocorreu em cada mês.



Estes dados corroboram com outros estudos que demonstraram menor prevalência do agente *B. bovis*, conforme foi encontrado nas análises realizadas neste experimento. Uma provável justificativa para essa baixa prevalência pode ser o fato de *B. bovis* ter tropismo por vasos viscerais e capilares do hospedeiro, reduzindo a detecção na coleta em sangue periférico (DIAS, 2019). Já *A. marginale* teve prevalência durante praticamente todo o período em todas as amostras. Do mesmo modo, MELO et al. (2005) relataram prevalência de anticorpos contra *A. marginale*, em ELISA, correspondente a 95,7% (310/324). Fatores descritos como relativos a estes níveis parasitários foram as condições climáticas de cada região, falha na imunidade passiva, introdução de animais de áreas livres em áreas endêmicas, além da frequência da população de carrapatos e da dinâmica de transmissão de *A. marginale*, como endêmica na região do trabalho (JOAZEIRO, 2012), para além disso a presença persistentemente da mosca *Haematobia irritans*, conhecida popularmente como mosca do chifre, no período do experimento, servindo como vetor de *A. marginale* (SOUZA, 2023). O outro agente, *B. bigemina*, por sua vez, por ser transmitido em diferentes estágios de vida do parasito, ninfas e adultos, mostrou prevalência considerável, já que os animais estiveram parasitados durante muitas coletas do projeto, bem como já relatou CAMARGO (2024).

4. CONCLUSÕES

O trabalho foi importante, pois pode servir como base de informações para o desenvolvimento de estratégias de controle do carrapato, seja com manejo do ambiente ou no desenvolvimento e definição dos períodos de aplicação de vacinas. Ficou evidenciado que é fundamental conhecer a epidemiologia e a época do ano em que há maior prevalência dos agentes, para assim evitar gastos desnecessários com produtos carrapaticidas e exames de diagnóstico, como o PCR, que, apesar de sua alta sensibilidade e especificidade para detectar os agentes, ainda apresenta custo elevado e difícil acesso para todos os produtores. Dos três agentes estudados, *A. marginale* mostrou-se endêmico na localidade do estudo, assim como *B. bigemina*, sendo que *B. bovis* pode ter apresentado menor prevalência por

ter sido detectado com menor frequência neste exame. Vale ressaltar que a manutenção dos animais em constante contato com o carrapato, porém em níveis baixos, é essencial para a consolidação da imunização natural contra a TPB.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOGO, M. C. et al. Avaliação in vitro de diferentes formulações acaricidas sobre o parâmetro reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Brazilian Journal of Development**. v.7, n.9, p. 87922-87924, 2021

CAMARGO, S. A. B. **Efeito do Sistema Lone Tick na sanidade de um rebanho estabelecido no bioma Pampa**. 2024. 58f. Tese (Mestrado) - Pós Graduação em Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas.

DIAS, L. G. **Prevalência de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos leiteiros de propriedade rural de Tupaciguara**. 2019. 29f. Tese (TCC) - Universidade Federal de Uberlândia.

FRAGA, A. B. et al. Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, p.1578–1586, 2003

JOAZEIRO, A. C. P. **Detecção e diferenciação de *Anaplasma marginale* e *Anaplasma centrale* por reação em cadeia de polimerase (PCR)**. 2012. 80f. Tese (Mestrado) - Pós Graduação em ciências veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

MELO, S. V. P. et al. Prevalência de anticoncepcionais anti- *Anaplasma marginale* na Região Metropolitana do Recife utilizando Elisa rMSP2. **CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA**. Porto Seguro, 2009. Inovação e responsabilidade social: **Anais**. Porto Seguro: SBMV, 2009. p.2.

OLIVEIRA, P. A., et al. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesq. Vet. Bras.** p. 5, 2017.

RAHAL N. M, et al. Association between chronic *Anaplasma marginale* and *Babesia* spp. infection and hematological parameters of taurine heifers. **Braz J Vet Parasitol**. v. 32, n. 3, p. 00643, 2023.

SILVA, F. M., PEREIRA, S. G. Tristeza Parasitaria Bovina – TPB, caracterização geral: revisão integrativa. **Ver. Cient. Acertte**. v. 2, n. 6, p. 13, 2022.

SOUZA, L. F. ***Anaplasma marginale* em *Rhipicephalus microplus*, *Stomoxys calcitrans* e *Haematobia irritans*: Detecção molecular e análise epidemiológica no carrapato**. 2023. 60f. Tese (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.