

7641.035
F. 132
1999

Patricia Iria Andereg

**EFEITO DA VACINA Bm 86 NO CONTROLE DE
Boophilus microplus (Canestrini, 1887) E NA IMUNIDADE
CONTRA A TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito para obtenção do grau de Mestre em
Medicina Veterinária.

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Orientação: Profa. Lygia Maria Friche Passos

Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
1999

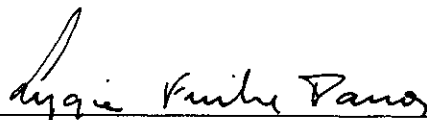
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

12/11/99

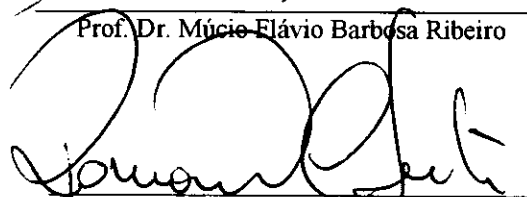
1384499-07

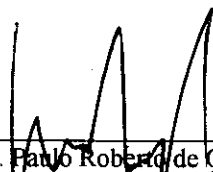
- A543e Anderegg, Patricia Iria, 1971-
1999 Efeito da vacina Bm 86 no controle de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) e na imunidade contra a tristeza parasitária bovina / Patricia Iria Anderegg. – Belo Horizonte: UFMG-Escola de Veterinária, 1999.
42 p.: il.
Dissertação (mestrado) – UFMG-Escola de Veterinária
1. Bovino - Parasito – Teses. 2. Carrapato – Controle – Teses. 3. *Boophilus microplus* – Controle – Teses. I. Título.
CDD – 636.208 969 68

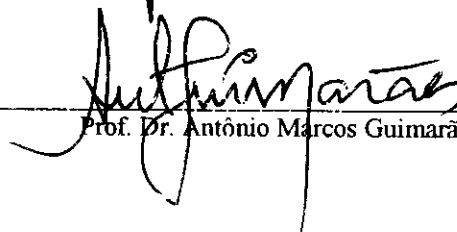
Dissertação defendida e aprovada em 23 de agosto de 1999, pela comissão de examinadores constituída por:


Prof.^a Dra. Lygia Maria Friche Passos
Orientadora


Prof. Dr. Múcio Eládio Barbosa Ribeiro


Prof. Dr. Romário Cerqueira Leite


Prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira


Prof. Dr. Antônio Marcos Guimarães

Com amor dedico aos meus pais, Regina e Gordon pelo amor dedicado, apoio e por todas as vezes que abriram mão de seus sonhos, para que eu realizasse os meus.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a Lygia Maria Friche Passos pela orientação, amizade, compreensão e confiança.

Aos Prof. Romário Cerqueira Leite, sem o qual este trabalho não seria realizado e pelos ensinamentos ao longo desse percurso.

Ao Prof. Múcio Flávio Barbosa Ribeiro pela co-orientação e apoio imprescindível à conclusão deste trabalho.

Aos Professores Paulo Roberto Oliveira e Antônio Marcos Guimarães pelas sugestões, correções e por todo os ensinamentos ao longo do curso de mestrado que enriqueceram este trabalho.

Ao Sr. Armando Leal do Norte por ter concedido as instalações e os animais de sua propriedade, sem os quais se tornaria impossível a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela concessão de bolsa de estudos durante o período de realização do Curso de Mestrado.

Ao Colegiado dos Cursos de Pós-graduação e às secretárias, Fátima, Nilda, Raquel e Eliana pela amizade, pelo zelo e atendimento amigo.

À Nádia, do centro de computação, pela paciência, carinho, dedicação e amizade durante todo o curso de mestrado, o meu sincero agradecimento.

À D. Sônia Rita do Nascimento por todo o carinho, amizade e auxílio.

Aos meus amigos, funcionários da Escola de Veterinária da UFMG, por todo o auxílio, amizade, companheirismo e momentos de alegria.

Aos meus amigos do Disab, Gilmara, Amarilis, Fernando, Regina, Eli, José Neto e Joana pelo apoio e solidariedade.

À minha irmã Karem, pelo carinho, confiança e amizade.

À Davi Eugênio pela compreensão, apoio, companheirismo nos momentos de alegria e dificuldades.

Às queridas amigas Eloisa de Freitas, Guiovana Bruneta, Vanessa Pereira e Viviane Mendonça pelo apoio, carinho, dedicação durante todos esses anos, o meu eterno agradecimento.

À Lurdes pelas valiosas sugestões que enriqueceram este trabalho.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho.

"Só se pode viver perto do outro, e conhecer outra pessoa, sem perigo de ódio, se a gente tem amor".
(Gimaraes Rosa)

SUMÁRIO

	RESUMO	9
	ABSTRACT	9
1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	Ciclo Biológico do <i>Boophilus microplus</i>	12
2.2	Ocorrência do <i>Boophilus microplus</i> no Brasil.....	13
2.3	Controle do <i>Boophilus microplus</i>	13
2.3.1	Vacinas.....	16
2.4	Tristeza Parasitária Bovina (TPB).....	18
2.4.1	Prevalência da TPB no Brasil.....	19
3.	MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1	Local do experimento.....	21
3.2	Animais.....	21
3.3	Tratamentos.....	21
3.4	Determinação do número de carrapatos.....	22
3.5	Coleta de Soro.....	22
3.6	Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).....	22
3.7	Dados Meteorológicos.....	22
3.8	Análise Estatística.....	23
4.	RESULTADOS	23
4.1.	Dados climatológicos.....	23
4.2.	Infestação por <i>B. microplus</i>	23
4.3.	Sorologia.....	25
4.3.1.	Animais de 6 meses de idade.....	25
4.3.1.1.	<i>Babesia bovis</i>	25
4.3.1.2.	<i>Babesia bigemina</i>	26
4.3.1.3.	<i>Anaplasma marginale</i>	27
4.3.2.	Animais de 17 meses de idade.....	28
4.3.2.1.	<i>Babesia bovis</i>	28
4.3.2.2.	<i>Babesia bigemina</i>	29
4.3.2.3.	<i>Anaplasma marginale</i>	30
5.	DISCUSSÃO	31
5.1.	Infestação por <i>B. microplus</i>	31
5.2.	Sorologia.....	33
6.	CONCLUSÕES	35
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Temperatura média e precipitação pluviométrica da região de Carlos Chagas, MG, no ano de 1996.	23
FIGURA 2	Frequência de anticorpos anti- <i>B. bovis</i> em bovinos a partir de seis meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B) em Carlos Chagas, MG, 1996.	26
FIGURA 3	Frequência de anticorpos anti- <i>B. bigemina</i> em bovinos a partir de seis meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B) em Carlos Chagas, MG, 1996.	27

FIGURA 4	Frequência de anticorpos anti- <i>A. marginale</i> em bovinos a partir de seis meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B) em Carlos Chagas, MG, 1996.	28
FIGURA 5	Frequência de anticorpos anti- <i>B. bovis</i> em bovinos a partir de 17 meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B) em Carlos Chagas, MG, 1996.	29
FIGURA 6	Frequência de anticorpos anti- <i>B. bigemina</i> em bovinos a partir de 17 meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B) em Carlos Chagas, MG, 1996.	30
FIGURA 7	Frequência de anticorpos anti- <i>A. marginale</i> em bovinos a partir de 17 meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B) em Carlos Chagas, MG, 1996.	31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Infestação média por <i>B. microplus</i> em animais a partir de seis meses de idade vacinados e não vacinados na Fazenda Pedra Riscada, Carlos Chagas, MG, maio – dezembro, 1996.	24
TABELA 2	Infestação média por <i>B. microplus</i> em animais a partir de 17 meses de idade vacinados e não vacinados na Fazenda Pedra Riscada, Carlos Chagas, MG, maio – novembro, 1996.	25

RESUMO

Avaliou-se a associação de banhos por aspersão com carrapaticida químico e a vacina TickGard Plus para o controle de *Boophilus microplus* e seus efeitos na resposta imune humoral contra a Tristeza Parasitária Bovina (TPB) em bovina mestiços Holandês x Tabapuã da propriedade Pedra Riscada, em Carlos Chagas, no vale do Mucuri, Nordeste do estado de Minas Gerais. O grupo vacinado foi composto por dois lotes de faixas etárias distintas. O lote um constou de 36 bezerras de seis meses de idade, que receberam quatro doses da vacina e três banhos com carrapaticida. O lote dois constou de 36 bovinos de 17 meses de idade, que receberam três doses da vacina e dois banhos com carrapaticida. O grupo controle foi composto por 18 bovinos de cada faixa etária e que recebeu somente banhos carrapaticidas, nas mesmas datas dos respectivos lotes vacinados. O experimento teve duração de oito meses (maio a dezembro) e foram coletadas mensalmente amostras de soro e realizada quinzenalmente a contagem de carrapatos nos bovinos. O soro foi analisado através da reação de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos anti-*Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*. Em relação ao controle do *B. microplus*, a associação dos dois métodos foi eficiente nas duas faixas etárias. Nos bovinos vacinados de 17 meses de idade a eficiência oscilou entre 62 e 95%, e estes apresentaram infestação significativamente menor (quatro fêmeas ingurgitadas/bovino) do que os bovinos de seis meses de idade (52,7 fêmeas ingurgitadas/bovino) de no período de maior desafio. Neste último grupo a eficiência oscilou entre 18 e 93%. A associação dos dois métodos também permitiu reduzir pela metade o número de banhos carrapaticidas. Não houve diferença significativa ($p < 0.05$) entre os resultados da sorologia dos bovinos vacinados e não vacinados das duas faixas etárias. Este resultado indica que a vacina não interferiu na imunidade dos bovinos contra a TPB.

Palavras Chave: *Boophilus microplus*, vacinação, hemoparasitoses, sorologia, bovinos.

ABSTRACT

This study evaluated the association of the TickGard Plus vaccine and acaricide treatments on the control of *Boophilus microplus* and its effect on the bovine humoral immune response against babesiosis and anaplasmosis. Seventy two cross-bred Holstein x Tabapuã cattle in a farm located in Carlos Chagas, Minas Gerais State, Brazil were divided into two groups. The vaccinated group had 72 animals, being 36 calves of 6 months old and 36 heifers of 17 months of age. The calves received 4 vaccinations of TickGard Plus and 3 acaricide treatments, while the heifers received 3 vaccinations and 2 acaricide treatments. A control group with 18 animals of each age received only acaricide treatments, at the same time of the vaccinated animals. Over a period of 8 months, serum samples were collected once a month and ticks were counted twice a month. Sera were analyzed by the indirect fluorescent antibody test for *B. bovis*, *B. bigemina* and *A. marginale*. The association was efficient in the control of the *B. microplus* population for both age groups, however, during the period of higher natural challenge, heifers showed a significant lower tick infestation (4 ticks/animal) than calves (52.7 ticks/animal). The vaccinated heifers showed a 62 to 95% decrease in the number of ault female ticks, and the calves showed a 18 to 93% decrease. With this association there was a reduction in the number of acaricide treatments. Regarding levels of antibodies, no significant differences were seen between vaccinated and control animals for both ages. These results suggest that the vaccine does not affect the humoral immune response to babesiosis and anaplasmosis.

Key Words: *Boophilus microplus*, vaccination, hemoparasites, serology, bovine

1. INTRODUÇÃO

A infestação por carrapatos é um dos principais problemas de ordem econômico-sanitária que atinge o rebanho bovino brasileiro. Além da expoliação direta, os carrapatos são transmissores de hemoparasitos causadores da Tristeza Parasitária Bovina (TPB), que, no Brasil, possui como agentes etiológicos os protozoários da espécie *B. bovis* (Babes, 1888) e *B. bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) e a rickettsia *A. marginale* (Theiler, 1910).

Os prejuízos causados pelas populações de carrapatos, direta ou indiretamente, são significativos. Os efeitos diretos da expoliação causada pelos carrapatos relacionam-se à diminuição do crescimento, à queda na produção de leite, redução na produção de carne, à baixa fertilidade do rebanho, aos danos causados no couro, à predisposição às miases e à transmissão da TPB. Os prejuízos indiretos relacionam-se ao alto investimento na aquisição de produtos carrapaticidas, mão de obra, equipamentos e instalações apropriados para o seu combate e também ao custo do tratamento e/ou controle das hemoparasitoses. O outro agravante é que o controle do carrapato baseia-se no uso de produtos químicos que, geralmente, contaminam o ambiente e o homem, além da permanência de resíduos na carne e no leite (Horn & Arteche, 1985).

Estima-se que, no Brasil, as perdas anuais causadas por este parasito sejam de aproximadamente um bilhão de dólares. Somente o custo de carrapaticidas empregados no seu controle alcançou a cifra de 28 milhões de dólares, em 1990 (Leite, 1993). Considerando apenas a perda de peso dos bovinos parasitados, os prejuízos equivalem a 6,51 reais por bovino (Arantes et al., 1995). Equacionando-se os custos reais do controle e as perdas diretas causadas por infestações de 50 fêmeas ingurgitadas por animal esse valor é de, aproximadamente, 8 dólares por animal ao ano (Horn & Arteche, 1985).

Métodos de controle da infestação de carrapatos têm sido utilizados desde o século XIX, principalmente com o uso de produtos químicos. O carrapato tornou-se resistente a vários carrapaticidas em decorrência do uso inadequado desses produtos, à falta de orientação técnica

(Verissimo, 1991) e à capacidade de adaptação inerente à sua característica (Patarroyo & Vargas, 1982; Flausino et al., 1995; Arantes, et al., 1995).

Uma vez que é difícil erradicar o carrapato em regiões de clima tropical e que sua presença no rebanho permite a manutenção da imunidade contra os agentes do complexo TPB, é importante conviver com o parasito, porém em níveis capazes de manter essa imunidade com o mínimo de danos para o animal (Furlong, 1993).

Desse modo, estratégias mais racionais de controle do carrapato dos bovinos associando diferentes procedimentos vêm sendo empregadas buscando maior economia para o produtor (menor número de tratamentos químicos por ano), redução dos efeitos tóxicos sobre o homem, animais e o meio ambiente, além de ser uma forma de prevenir o aparecimento precoce da resistência, possibilitando maior tempo de vida útil dos carrapaticidas.

Com os avanços na área de imunologia, bioquímica, biologia celular e da biotecnologia foi possível o desenvolvimento de vacinas para o controle do carrapato (Barriga, 1994). Atualmente existem três vacinas nas quais a fração antigênica é uma glicoproteína das células intestinais do carrapato: a TickGard e TickGard Plus desenvolvidas na Austrália pelo Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO) em associação com o laboratório Biotec do grupo Hoechst Roussel (Willadsen et al., 1995), e a Gavac produzida pelo Instituto de Biotecnologia de Havana e comercializada por Herber Biotec S.A. (Rodriguez et al., 1995).

O controle da infestação de carrapatos através da utilização de vacinas tem se mostrado eficiente em algumas regiões do Brasil (Massard et al., 1995; Hernández et al., 1998a e 1998b), porém é importante considerar as particularidades de cada região.

Devido à falta de estudos, em Minas Gerais, sobre a utilização de vacinas no controle de carrapatos e dos seus efeitos na imunidade dos bovinos para o complexo da TPB, o presente trabalho teve como objetivos:

- avaliar a eficiência da associação da vacina TickGard Plus com tratamentos carrapaticidas no controle do carrapato *B. microplus* em diferentes faixas etárias de animais;
- avaliar o efeito deste método de controle de carrapatos sobre o estado imune dos bovinos para o complexo da Tristeza Parasitária Bovina (TPB);

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os carrapatos são conhecidos pela humanidade há milhares de anos. Existem registros de sua existência, no Egito, datadas de 1500 AC (Pitombo, 1988). Há duas grandes famílias de carrapatos: a Ixodidae e a Argasidae. A primeira é considerada a mais importante (Urquhart et al., 1990). Para a pecuária nacional a principal espécie refere-se ao *B. microplus*, carrapato que tem como hospedeiro preferencial o bovino. Na Região Metalúrgica de MG, as espécies de carrapatos observadas infestando os bovinos foram o *B. microplus*, *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens* (Moreno, 1984).

O *B. microplus* é originário da Ásia e foi introduzido na maioria dos países tropicais e subtropicais através da importação de bovinos proveniente deste continente (Wharton, 1974). Os primeiros relatos sobre os ixodídeos no Brasil datam do início de século XX, e se referem a ocorrência de *Babesia* e *Anaplasma* em bovinos e à demonstração do papel do *B. microplus* na sua transmissão.

2.1 Ciclo Biológico do *B. microplus*

As condições ótimas para a sobrevivência, multiplicação e disseminação do *B. microplus* correspondem a uma faixa entre os paralelos 32° norte e 32° sul que abrange importantes zonas da América Central e do Sul, África e Oceania (Nunes et al., 1982). Na América Central e América do Sul, estima-se a existência de 250 milhões de bovinos, e 70% destes estão em áreas endêmicas de carrapatos (Lopez, 1977).

O *B. microplus* é um ixodídeo monoxênico não ornamentado, com olhos presentes e festões ausentes. Os machos, com 1,5–2,5 mm de comprimento total, possuem dois pares de placas

adanaís e um curto cone hipostomal. Já as fêmeas, com 1,9–2,5 mm de comprimento antes de ingurgitar, e até 13 mm de comprimento quando ingurgitadas, possuem hipostômio curto, largo e mais longo que os palpos (Urquhart et al., 1990). Seu ciclo evolutivo é composto por duas fases: a fase de vida livre, que se realiza no solo; a fase parasitária, que se realiza no corpo do animal.

A fase de vida livre começa com a queda da fêmea ingurgitada e fecundada. Termina quando as larvas oriundas dos seus ovos têm acesso ao hospedeiro. A fase de postura ocorre no chão tendo como condições climáticas ideais para a região de Pedro Leopoldo, MG, 27°C e umidade relativa do ar de 80%, sendo que a postura dura em média de 21 dias. O período de postura e a produção média de ovos, que é aproximadamente dois mil, é influenciado principalmente pela temperatura. Se as condições forem adversas, as fêmeas ingurgitadas podem permanecer vivas por até cinco meses nas pastagens, sem efetuar postura (Magalhães, 1989). Após a postura, a fêmea morre (Snowball, 1957).

A incubação dos ovos varia de 15 a 55 dias, dependendo da temperatura e da umidade relativa do ar (Snowball, 1957). Para a larva que emerge do ovo (neolarva) a longevidade depende da temperatura e da umidade relativa, e em Pedro Leopoldo, MG, ela varia de oito a vinte semanas (Magalhães, 1989). As larvas infestantes sobem na vegetação à procura do hospedeiro guiadas pelo fenômeno de geotropismo negativo, e caso não encontrem o hospedeiro, as larvas terminam morrendo por exaustão.

A fase parasitária inicia-se com a subida da larva no hospedeiro que se fixa preferencialmente na base da cauda, perineo, entre-pernas, peito, tábua do pescoço e face interna das orelhas. Esta fase é pouco afetada pelas condições ambientais. A fixação consiste na penetração mecânica do rostro na epiderme, após o corte pelas quelíceras, seguida da secreção do cimento, que mantém as peças bucais do carrapato fixadas na pele durante todo o ciclo parasitário (Pereira, 1982).

As larvas, que possuem três pares de patas, alimentam-se principalmente de linfa e de tecidos digeridos por sua saliva. Após cinco dias de repasto, inicia-se o processo de muda. Entre o sétimo e oitavo dia do ciclo, origina-se a ninfa,

que tem quatro pares de patas. A ninfa alimenta-se preferencialmente de sangue por quatro dias e aí se inicia um novo processo de muda, enquanto a ninfa permanece fixada no hospedeiro. Após o 14º dia, as ninfas dão origem a machos e fêmeas, que também se alimentam de sangue e, após um breve período de tempo, entram numa fase de maturidade sexual. O macho fixado na parte ventral da fêmea introduz os espermátóforos no orifício genital ocorrendo a fertilização e, somente após esta fase, é que a fêmea atinge o grau máximo de ingurgitamento (Oliver Jr, 1974). A fase parasitária do ciclo tem uma duração média de 21 dias, porém pode ser completada entre 18 a 37 dias, dependendo das condições ambientais (Magalhães, 1989).

2.2. Ocorrência do *B. microplus* no Brasil

O *B. microplus* ocorre em todo o país com intensidade variada (Horn & Arteché, 1985). A intensidade da ocorrência está relacionada a diversos fatores como temperatura, umidade relativa do ar, manejo do rebanho e pastagens, manejo dos banheiros carrapaticidas e a própria sensibilidade dos carrapatos aos carrapaticidas (Gonzales et al., 1975). Um outro fator é o aumento do grau de sangue europeu nos rebanhos brasileiros (cruzamentos industriais) o que aumenta a sensibilidade ao carrapato (Kelly & Spiers, 1976).

No Brasil, as regiões de maior presença do carrapato são as Sudeste e Centro Oeste. Várias são as condições adversas à reprodução e sobrevivência do *B. microplus*: o frio no inverno da região Sul (maio a junho); o excesso de chuvas e umidade do solo, além da baixa densidade animal, na região Norte; a baixa precipitação de chuvas no sertão e Agreste da região Nordeste, norte de MG e nordeste de Goiás (Horn & Arteché, 1985).

Em um levantamento feito na década de 80 (Horn & Arteché, 1985) foi observada a presença do *B. microplus* em 98% dos municípios investigados (75% do total dos municípios brasileiros) e em 66% deste foi constatada a presença do carrapato durante os 12 meses do ano.

2.3. Controle do *B. microplus*

Por ser difícil erradicar o carrapato em regiões de clima tropical, e a sua presença no rebanho permite a manutenção da imunidade contra os agentes do complexo TPB, mas é importante conviver com o parasito, porém em níveis capazes de manter essa imunidade com o mínimo de danos para o animal (Furlong, 1993). A redução da infestação de carrapatos através de controle rigoroso resulta em diminuição da taxa de inoculação dos agentes do complexo TPB, podendo-se criar um quadro onde a população bovina torna-se vulnerável à babesiose e à anaplasmose se, porventura, houver uma súbita elevação na população de carrapatos.

A busca de métodos de controle de carrapatos é muito antiga, porém somente ao final do século XIX, os acaricidas à base de soluções arsenicais foram introduzidos com êxito, no combate ao *B. microplus* (Newton, 1967). Empregou-se esse composto até 1950, quando foi registrado o surgimento de fatores de resistência do carrapato a esse tipo de produto no Brasil (Freire, 1953). Os compostos organoclorados surgiram para substituir os arsenicais, porém foram relatados casos de resistência a esta solução no Rio Grande do Sul (Freire, 1956). Os carrapaticidas organofosforados foram introduzidos no mercado em 1956 (Wharton, 1974), porém logo surgiu resistência também a este produto, no Brasil (Shaw et al., 1968; Patarroyo & Costa, 1980). Mesmo assim, muitos compostos organofosforados continuam sendo usados e novos produtos foram lançados no mercado. Na procura de outros compostos eficientes ao combate do carrapato, foram lançados os carbamatos, formamidas, thiureas, iminopirrolidinas, dithietane, piretróides e thiazolina-ximiazole (Stendel, 1980). Embora já tenham sido relatados casos de resistência a alguns destes produtos, como os piretróides, na Austrália (Nolan et al., 1989) e na Nova Caledônia (Wright & Ahrens, 1989).

A abamectina, ivermectina e doramectina são derivados semi-sintéticos da avermectina B1, e que se compõem de lactonas macrocíclicas produzidas pela fermentação do actinomiceto *Streptomyces avermitilis*. Este grupo é um carrapaticida de uso sistêmico e de liberação lenta e eficaz no controle do *B. microplus*.

(Wright, 1985), mesmo em cepas de carrapatos resistentes (Nolan, 1985).

Como alternativa de controle da crescente população de *B. microplus* resistentes aos acaricidas convencionais tem-se aumentado o uso das ivermectinas nas ações de controle (Comedouros et al., 1995). A eficiência do produto contra fêmeas ingurgitadas foi maior do que 99% após 28 dias de tratamento (Leite et al., 1995; Marques et al., 1995). Cordóves et al. (1997) demonstraram a eficiência da ivermectina no controle de carrapatos resistentes a organofosforados, piretróides e amitraz.

O problema da resistência do *B. microplus* aos acaricidas tem sido confirmado na região Sul e Sudeste do Brasil (Flausino et al., 1995). Em uma avaliação de nove carrapaticidas disponíveis no mercado verificou-se que apenas um dos produtos (à base de organofosforado) apresentou resultados adequados, eliminando mais de 95% das fêmeas ingurgitadas que parasitavam os bovinos tratados. Porém nenhum dos nove produtos demonstrou eficiência adequada na inibição da eclosão (Arantes et al., 1995).

A era dos carrapaticidas altamente eficazes estimulou os pecuaristas, e muitos pesquisadores, a acreditarem que continuariam contando com provisões de novos e eficientes produtos. Normalmente devido à falta de orientação técnica, os produtos não são usados na concentração recomendada e as técnicas utilizadas na sua aplicação não são eficientes para controlar os carrapatos (Moreno, 1984). Este manejo inadequado permite a sobrevivência de alguns indivíduos naturalmente resistentes e, cada tratamento subsequente contribui para a rápida seleção de uma população resistente, principalmente nos carrapatos monoxenos (de um só hospedeiro), como os do gênero *Boophilus* (Nolan, 1985; Nolan et al., 1989). A grande capacidade reprodutiva dos carrapatos permite a aquisição de resistência, às vezes, rapidamente, aos carrapaticidas. Além disso, a introdução do gado europeu (*Bos taurus*) em áreas tradicionalmente produtoras de gado zebu (*Bos indicus*) também favorece o aparecimento da baixa eficiência dos tratamentos químicos com o desenvolvimento precoce do fenômeno de resistência (Arantes et al., 1995; Flausino et al., 1995). Esses fatores limitam os benefícios dos carrapaticidas, podendo-se chegar à situação em

que a obtenção de novos compostos químicos eficientes seja economicamente inviável para a indústria (Wharton, 1976). Uma vez que tenha sido comprovada a resistência a um acaricida de determinado grupo químico, ela é irreversível (Patarroyo & Vargas, 1982).

Vários métodos alternativos de controle têm sido propostos com o intuito de reduzir a infestação de carrapatos nos bovinos. Um desses métodos alternativos é a utilização de bactérias como a *Cedecea lapagei* e a *Escherichia coli* que são patogênicas ao *B. microplus*, causando danos visíveis às fêmeas ingurgitadas com significativa diminuição da postura de ovos e morte das fêmeas (Brum & Teixeira, 1992 a, b). Além de bactérias, fungos como o *Metarhizium anisopliae* também são patogênicos para as fêmeas de *B. microplus* (Bittencourt et al., 1992; Cavagnoli et al., 1997). Várias espécies de predadores do *B. microplus* como vespas e formigas (*Solenopsis geminata*) (Butler et al., 1979), aves da espécie *Ardesia ibis ibis* e *Crotophaga anis* (Simmonds, 1967), a galinha doméstica (Hassan et al., 1991) e o gavião chimango (*Mivalgo chimango*) (Alves-Branco et al., 1983) têm sido citados. Mas a utilização desses predadores e dos patógenos no controle do *B. microplus* requer maiores conhecimentos, caso contrário poderão se tornar problemas ainda maiores.

A utilização de machos estéreis por irradiação ou híbridos estéreis resultantes do cruzamento interespecífico de *B. microplus* x *B. annulatus* é uma forma de controle ineficiente, uma vez que as fêmeas podem se acasalar com muitos machos, e a cópula com um macho estéril não influenciará na sua fertilidade, se posteriormente ocorrer acasalamento com machos férteis (Matthewson, 1984). Além disso, há dificuldade de se produzir grande número de carrapatos estéreis, além do que os machos são importantes transmissores da TPB (Callow et al., 1978).

Outra forma de controle é a utilização de pastagens (gramíneas e leguminosas) com propriedades antibiose e/ou antixenose das formas de vida livre do carrapato. Dentre as gramíneas destacam-se o capim gordura (*Melinis minutiflora*) e o andropogon (*Andropogon gayanus*) (Farias et al., 1986). Com relação às leguminosas observou-se grande mortalidade de larvas de *B. microplus*, quando expostas ao *Stylosanthes* sp (Sutherst et al., 1982). O uso

dessas gramíneas e leguminosas são parcialmente viáveis no controle do carrapato (Aycardi et al., 1984), pois nem sempre é possível a implantação desse tipo de pastagem, principalmente por motivos econômicos, condições do solo, clima, produtividade e matéria verde.

O descanso e a rotação de pastagens é outro procedimento, que consiste na retirada dos bovinos do piquete por um período suficientemente longo, para que as larvas não alimentadas do carrapato, que ali se encontram, morram (Wharton et al., 1969). O conhecimento da longevidade das larvas no ambiente é fundamental para definir o tempo de descanso das pastagens (Lemos, 1986). Como este período pode ser superior a 20 semanas, a utilização dessa metodologia é limitada devido à impossibilidade de deixar uma área sem exploração por mais de cinco meses. Mais vantajoso, do ponto de vista econômico, do que o descanso do pasto, é a utilização do pasto por animais mais resistentes ao carrapato, como animais zebuínos ou caprinos, após a retirada dos bovinos suscetíveis, por um período mínimo de 40 dias (Wharton et al., 1969).

Um dos métodos biológicos eficientes no controle do *B. microplus* é a criação de animais zebuínos (*Bos indicus*) que são geneticamente resistentes. Segundo Rocha (1984), o Nelore impede a fixação das larvas do *B. microplus*, livrando-se delas através da auto limpeza, interrompendo assim o ciclo parasitário. Também foi observado que as teleógenas que parasitam as raças zebuínas têm uma postura menor, logo há uma menor população de larvas infestante nas pastagens (Hewetson & Nolan, 1967). A criação de animais resistentes é a forma mais eficaz para controlar o carrapato, uma vez que gera a diminuição efetiva da população de carrapatos. É um método econômico, pois há menor gasto com carrapaticida, queda no uso de medicamentos, baixa na mortalidade e menor queda na produção. Sob o ponto de vista ecológico é o método ideal, uma vez que não polui o meio ambiente, não intoxicando nem homens nem animais (Veríssimo, 1991).

A taxa de infecção pela TPB é menor nos bovinos resistentes aos carrapatos, pois a epidemiologia da doença depende do número de vetores infectados que se fixam por dia, e do

tempo que estes conseguem se alimentar (Tucumán, 1990; Veríssimo, 1991). Além disso, os carrapatos que parasitam raças zebuínas e seus cruzamentos têm uma menor taxa de inoculação (Mahoney et al., 1981). Porém, para se aumentar a produtividade, principalmente na produção de leite, e também na de carne, os cruzamentos entre *Bos indicus* e *Bos taurus* são cada vez mais empregados. À medida em que se aumenta o grau de sangue europeu (*Bos taurus*) aumenta-se significativamente a suscetibilidade ao carrapato (Lemos et al., 1985).

Veríssimo (1991) demonstrou que bezerros mestiços de até sete meses eram bastante resistentes ao carrapato; estes passam por uma fase de instabilidade de sua resistência na idade da puberdade (8-12 meses de idade), estabilizando seu nível de resistência por volta dos 18 meses de idade.

Apesar de todos esses métodos de controle, hoje o combate ao *B. microplus* continua baseando-se principalmente no uso de acaricidas. Para substituir ou minimizar a utilização destes produtos faz-se necessária uma interação do manejo, da seleção genética do rebanho e do desenvolvimento de vacinas capazes de induzir resistência no hospedeiro frente aos carrapatos (Labarthe, 1994).

Estratégias mais racionais de controle químico do carrapato dos bovinos ou sistemas integrados, associando diferentes procedimentos, vêm sendo objeto de estudos e são empregadas com o intuito de uma maior economia para o produtor (menor número de tratamento químicos por ano), redução dos efeitos tóxicos sobre o homem, os animais e o meio ambiente, forma de prevenir o aparecimento precoce da resistência, possibilitando maior tempo de vida útil aos carrapaticidas.

Dentro desta filosofia, o controle estratégico de carrapatos baseia-se na aplicação de produtos carrapaticidas, nos bovinos, a intervalos previamente determinados, geralmente a cada 21 dias, a partir do período de maior infestação de carrapatos. Para isso é fundamental o conhecimento da biologia e ecologia das fases parasitárias e não parasitárias do *B. microplus*. O objetivo de tal sistema é reduzir a população de formas livres do carrapato nas pastagens, através do tratamento dos animais, que vão agir como

armadilhas vivas para as larvas infestantes que os atingirem durante o período de ação residual do produto carrapaticida utilizado. Este controle pode ser iniciado na primavera ou no verão, dependendo do manejo que melhor se adaptar à propriedade. Se os tratamentos carrapaticidas forem implantados na primavera (outubro) atuarão sobre a primeira geração de carrapatos. Com a elevação da temperatura nesta época haverá uma grande eclosão de ovos originando o fenômeno chamado de "spring-rise", que causa um aumento no número de carrapatos parasitando os bovinos. Esses tratamentos evitam que as teleógenas caiam nas pastagens. Os tratamentos iniciados no verão (janeiro) atuarão sobre a geração mais curta, interrompendo o ciclo que se torna mais curto durante esta época. As larvas que não encontrarem o hospedeiro morrerão, em função das altas temperaturas, o que auxilia o sucesso do controle. Tanto na primavera quando no verão são as épocas do ano de maior número de fêmeas adultas do carrapato nos animais, fato que facilita a implantação junto aos produtores de um programa de controle estratégico (Alves-Branco et al., 1989; Furlong, 1992; Magalhães & Lima, 1991; Oliveira, 1993).

2.3.1. Vacinas

O desenvolvimento de vacinas representa um passo importante no controle do *B. microplus* e tem sido conseguido através dos avanços da imunologia, da bioquímica, da biologia celular e da biotecnologia (Barriga, 1994).

Infestações naturais de *B. microplus* em bovinos produzem resistência parcial, pois no processo de co-evolução das duas espécies, não houve uma seleção apenas unilateral para que essa imunidade fosse mais efetiva, uma vez que as duas espécies têm buscado conviver harmoniosamente, uma controlando a outra, no sentido de que nenhuma vença a outra a ponto de extingui-la, ou seja, a evolução do processo ocorre de forma bilateral (Labruna et al., 1999). Esta resposta imunológica à infecção natural gera resistência, porém não previne os prejuízos causados pelos carrapatos (Barriga, 1994).

Na tentativa de se induzir uma imunidade protetora, pensou-se que a vacina deveria conter antígenos das glândulas salivares do carrapato, uma vez que o parasito entra em contato com o hospedeiro através do aparelho bucal e de

secreções salivares. Os resultados produzidos por essas vacinas induziram fraca resposta imunológica com baixa proteção contra reinfestações, uma vez que os antígenos processados pelo hospedeiro seriam basicamente os mesmos (Wikel, 1981; Tellan et al., 1992) e só apresentavam resultados eficientes quando utilizado em hospedeiros não naturais do carrapato (Wikel, 1988; Das et al., 1993). Porém, o emprego de vacinas a partir de antígenos de glândulas salivares tem-se mostrado promissor no sentido de impedir a transmissão de doenças pelos carrapatos (Wikel & Bergman, 1997).

Partindo-se do pressuposto de que os antígenos naturalmente apresentados ao hospedeiro induzem apenas uma imunidade parcial ao carrapato, foi sugerido imunizar bovinos com antígenos que não são normalmente apresentados numa infestação natural de carrapatos. São os chamados "antígenos ocultos" que induzem resposta imunológica diferente daquela adquirida naturalmente (Willadsen et al., 1989; Wikel, 1988).

A partir deste fundamento vários imunógenos foram testados. Vacinas utilizando extratos de ovos de *B. microplus* (Kimaro & Opdebeeck, 1994), hemócitos e hemolinfa obtiveram sucesso limitado (Opdebeeck et al., 1988).

Quando se utilizou o extrato de intestino de fêmeas ingurgitadas (Johnston et al., 1986; Willadsen & Kemp, 1988) obteve-se uma proteção em torno de 47%, observada pela diminuição do número de carrapatos e diminuição de suas posturas. O carrapato alimentado nos bovinos imunizados apresentam, histologicamente, lesões no epitélio intestinal, particularmente nas células digestivas, e muitos desses carrapatos apresentam macroscopicamente coloração avermelhada, vindo a ser constatada a presença de hemácias intactas na hemolinfa. Mediante estes resultados ficou claro que a imunização de bovinos contra o *B. microplus* com antígenos extraídos do intestino de carrapatos era o alvo mais promissor para o desenvolvimento de vacinas que provocaria algum tipo de lesão nas células intestinais, impedindo o processo normal de digestão (Opdebeeck et al., 1988; Jackson & Opdebeeck, 1989; Wong & Opdebeeck, 1990). O próximo passo seria isolar o antígeno responsável pelo desenvolvimento de proteção,

através de testes de fracionamento dos antígenos intestinais, até encontrar aquele que teria verdadeiras propriedades imunogênicas.

Em 1986, foi purificado um antígeno das células epiteliais intestinais de fêmeas ingurgitadas, o Bm 86, que é uma glicoproteína de 89 kDa e pI de 5,5 capaz de induzir alterações semelhantes às observadas com o extrato bruto de carrapato (Willadsen et al., 1989). Rand et al. (1989) demonstraram que o Bm 86 é composto por 650 aminoácidos, dos quais 10% são cisteína, e que a proteína tem grande afinidade com o precursor do fator de crescimento epidérmico. Provavelmente, esta deva ter alguma função semelhante a esse fator, só que nas células intestinais. O Bm 86 está localizado nas microvilosidades da membrana das células epiteliais do intestino como foi demonstrado através de técnicas imunológicas (Gough & Kemp, 1993).

Os anticorpos induzidos pela vacina Bm 86 são principalmente IgG e lisam as células digestivas do intestino dos carrapatos na presença do sistema complemento e, possivelmente, outros componentes imunológicos (Wikel, 1988; Willadsen et al., 1995). Já Gough & Kemp (1993) sugerem que os anticorpos interferem na pinocitose (essencial para a digestão intracelular). As fêmeas de *B. microplus* que ingerem os anticorpos anti-Bm 86 não conseguem fazer a digestão intracelular eficiente, e, nesse caso, o intestino distende-se excessivamente, permitindo a passagem de sangue para fora do intestino, caindo na hemolinfa (Willadsen, 1997).

Os carrapatos adultos são os mais afetados. Particularmente as fêmeas pela sua própria fisiologia e pelo fato de ingerirem uma quantidade maior de sangue (Tellam et al., 1992; Willadsen et al., 1992; Willadsen, 1997). Aquelas que sobreviveram até o ingurgitamento alcançaram um peso menor e uma menor postura, além de menor viabilidade dos ovos. Algumas mudam da cor cinza (normal) para um tom avermelhado, evidenciando uma lesão intestinal. Assim a vacina, indiretamente, acaba por evitar a transmissão de patógenos a outros hospedeiros, pois ela diminui a postura de ovos resultando em um geração menor de novos carrapatos (Wikel, 1988). A vacina retarda a

ecdise de larva para ninfa em 12 horas (Tellam et al., 1992).

O grande mérito da vacina Bm 86 está no fato dela atuar independentemente da imunidade natural do bovino ao carrapato. Enquanto a imunidade natural ocorre basicamente na forma de hipersensibilidade, atingindo as larvas nas primeiras horas de fixação, a imunidade induzida pela vacina atinge a reprodução de fêmeas adultas (Willadsen & Kemp, 1988; Rodrigues et al., 1995). O efeito principal da vacina não é a de diminuir a população de carrapatos numa única geração e sim progressivamente ao longo de várias gerações, através da diminuição da eficácia reprodutiva (Rodrigues et al., 1995).

Como o antígeno Bm 86 é encontrado em pequena concentração nas fêmeas ingurgitadas (Willadsen et al., 1989) foi necessária a utilização da engenharia genética para a produção do antígeno em quantidades industriais. Assim, pela clonagem do DNA que codifica essa proteína em *E. coli*, em *Aspergillus nidulans* e *Baculovirus* (Tellam et al., 1992) conseguiu-se a produção do antígeno em larga escala. O Bm 86 produzido pela clonagem apresenta pequenas diferenças estruturais em comparação com o Bm 86 original, e apesar da eficácia da imunização utilizando a proteína clonada ser um pouco inferior à da proteína original, os resultados obtidos são eficazes no controle do *B. microplus* (Cobon et al., 1991).

Em 1994 foi lançada a primeira vacina comercial, a TickGard, formulada com antígeno Bm 86 clonado em *E. coli*. O meio contendo a *E. coli* clonada sofre uma desnaturação e uma solubilização para liberar a proteína Bm 86. O último passo consiste em rematuração, precipitação e concentração da proteína. A vacina é uma emulsão, resultante da solução de proteína e formaldeído misturado com o adjuvante que é o anidromanitoletetrodecenoato (Montanide 888) solubilizado em óleo mineral, com fase contínua (Smith et al., 1994; Willadsen et al., 1995). Rodríguez et al. (1995) clonaram a proteína em *Pichia pastoris* lançando a segunda vacina comercial, Gavac, que também utiliza adjuvante oleoso.

Foi verificado que a homologia entre as diferentes cepas de *B. microplus* é suficiente para induzir imunidade nos animais após a vacinação

com o Bm 86 recombinante (Penichet et al., 1994), assim como sua eficiência em várias raças bovinas (Smith et al., 1994; Willadsen et al., 1995).

A eficácia da vacina Gavac em teste de estábulo oscilou entre 50 a 90% (Tellan et al., 1992; Massard et al., 1995; Willadsen et al., 1995). Os experimentos realizados em campo, (Cuba) utilizando três vacinações (a primovacinação e dois reforços), com intervalos de zero, quatro e sete (ou doze) semanas também demonstraram bons resultados, sendo que a maior eficácia coincide com o período de maior titulação de anticorpos (Smith et al., 1994; Rodriguez et al., 1995). Rodriguez et al. (1995) demonstraram que o título mínimo de anticorpos necessário para manter os animais imunizados é facilmente obtido após a vacinação e mantido por períodos de cinco a dez meses.

Trabalhos feitos no Brasil mostram que a utilização da vacina em propriedades rurais resultou em uma diminuição do número de tratamentos químicos realizados e uma economia de 25% nos custos com carrapaticidas (Massard et al., 1995). A aplicação de três doses da vacina com imunógeno recombinante Bm 86 e reforços semestrais reduziu a infestação de carrapatos a um máximo de 20 carrapatos/animal (Hernández et al., 1998a). As avaliações sorológicas demonstraram que nos animais vacinados houve uma resposta imune expressiva, após a segunda dose da vacina e que se manteve elevada durante as 65 semanas estudadas (Rodríguez et al., 1995; Hernández et al., 1998b).

Submetendo os bovinos a condições de baixo desafio parasitário, a vacina por si só é capaz de controlar a infestação de carrapatos, porém em condições de altas cargas parasitárias o uso da vacina pode ser insignificante. Nestas condições, o resultado pode ser melhorado significativamente, quando em conjunto com a vacina utilizam-se tratamentos químicos para evitar altos picos de infestação (Willadsen et al., 1995; Labarta et al., 1996).

Em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do *B. microplus*, durante todo o ano, como ocorre em grande parte do Brasil, faz-se necessária a associação de tratamentos carrapaticidas com a vacina Bm 86. Hungerford et al. (1995) demonstraram que a associação de

vacina TickGard com tratamentos químicos resultou em diminuição do número de tratamentos e menor infestação das pastagens. Resultados de experimento realizado com a vacina juntamente com tratamentos carrapaticidas, no nordeste do estado de São Paulo, foram eficientes no controle da infestação de carrapatos (Rodríguez et al., 1995).

2.4. Tristeza Parasitária Bovina (TPB)

Tanto a *Babesia* quanto o *Anaplasma* podem ser transmitidos biologicamente pelo carrapato, justificando o estreito relacionamento entre TPB-carrapato (Ristic, 1988). Para que a transmissão da TPB ocorra, é necessário que o desenvolvimento da *Babesia/Anaplasma* aconteça em paralelo com a reprodução do vetor (*B. microplus*) e que os dois ciclos biológicos estejam sincronizados. É necessário também que as condições climáticas do meio ambiente sejam favoráveis à sobrevivência e ao desenvolvimento da fase não parasitária do carrapato (Barci et al., 1994).

Não está totalmente esclarecida a influência do *B. microplus* na epidemiologia da anaplasmosse não está totalmente esclarecida (Alonso et al., 1992; Guglielmone, 1995). Já foram demonstrados, no Brasil, a infecção e formação de colônias do *A. marginale* no intestino do *B. microplus* (Ribeiro, 1991) e o desenvolvimento do *A. marginale* em fêmeas de *B. microplus* (Ribeiro & Lima, 1996). Vidotto et al. (1997) relataram a presença de *A. marginale* em diferentes fases evolutivas do *B. microplus* (ovos no 10º dia de postura, larvas de uma e duas semanas e teleógenas), indicando a importância da transmissão transovariana. No carrapato, ocorre também a transmissão transtadial entre larva-ninfa e ninfa-adulto e a transmissão intraestadial nos estádios de ninfa e adulto (Wanduragala & Ristic, 1993). A transmissão para o bovino ocorre, normalmente, de estádio para estádio. A presença desta rickettsia em machos do *B. microplus* pode ter importância na transmissão da anaplasmosse considerando sua longevidade e motilidade, e a possibilidade deste ixodídeo se transferir de um hospedeiro a outro (Vidotto, et al., 1997).

O *A. marginale* também pode ser transmitido mecanicamente por dípteros hematófagos (Tabanidae e *Stomoxys*), por mosquitos da ordem

Psorophora, como o *Culex sp* e o *Aedes sp*, e ainda através de agulhas contaminadas (Wanduragala & Ristic, 1993; Ribeiro & Lima, 1996). A transmissão congênita foi relatada em Minas Gerais por Passos & Lima (1984) e Ribeiro et al. (1995).

No Brasil, o *B. microplus* é o transmissor biológico da *Babesia sp*. A teleógena infecta-se nas últimas horas do ingurgitamento nos bovinos portadores do protozoário. No intestino do carrapato, os parasitos transformam-se em gametas que se fundem dando origem aos zigotos que penetram nas células epiteliais onde iniciam divisão, por esquizogonia, dando origem a esporocinetos. Estes invadem a hemolinfa e iniciam ciclos de fissão múltipla nos diversos órgãos da fêmea ingurgitada, inclusive no ovário, infectando parte dos oócitos e resultando na transmissão transovariana. Com o início da alimentação das larvas no bovino, a multiplicação do protozoário continua nas células das glândulas salivares da larva do carrapato, dando origem aos esporozoítos que são inoculados através da saliva no bovino. O parasito penetra nos eritrócitos, onde se multiplica por fissão binária, dando origem a dois merozoítos. Estes rompem a célula hospedeira e cada um penetra em outro eritrócito, dando origem a duas novas hemácias parasitadas (Friedhoff, 1988).

A larva do *B. microplus* é o único estágio capaz de transmitir a *B. bovis*, sendo necessária a infecção da fase adulta para haver a continuidade do ciclo (Mahoney & Mirre, 1979). A *B. bigemina* é transmitida pelos estádios de ninfa e adulto (Mahoney & Ross, 1972). Callow et al. (1978) demonstraram a importância dos machos desta espécie de ixodídeo na transmissão da *B. bigemina*.

A TPB pode se manifestar sob várias formas clínicas que variam de hiperaguda, na qual ocorre alta mortalidade, à crônica, com poucos casos de morte, levando porém à redução do crescimento e da produção de carne e leite. Abortos em fêmeas e infertilidade temporária em machos e fêmeas podem ser observados (McCosker, 1981). A sintomatologia clínica depende principalmente da cepa do parasita e da suscetibilidade do hospedeiro, que está relacionada com a idade, raça, estado fisiológico e imunológico do animal e estresse ambiental. O

animal com babesiose apresenta febre, queda do hematócrito, hemoglobinemias, hemoglobinúria e hipóxia. A aglutinação intravascular de eritrócitos pode ser observada nas infecções por *B. bovis* (Hildebrandt, 1981). Os sinais da anaplasmosose incluem depressão, inapetência, pirexia, e paralelamente há uma crescente parasitemia, desenvolvendo-se uma anemia (Wanduragala & Ristic, 1993).

Os rebanhos são considerados em situação de estabilidade enzoótica, quando mais de 75% dos animais se infectam antes dos nove meses de idade, período em que fatores de resistência natural previnem casos graves. Porém se a população de carrapatos for muito baixa ou ausente, grande parte dos animais não se infecta antes dos nove meses, favorecendo desta forma a ocorrência de infecções com sinais clínicos graves na idade adulta, caracterizando assim uma situação de instabilidade enzoótica (Mahoney & Ross, 1972).

A estabilidade da TPB é determinada pela taxa de inoculação, que por sua vez, depende do número de picadas recebidas do vetor/dia, da porcentagem da população de vetores que carregam as formas infectantes da *Babesia* e do *Anaplasma* e da porcentagem de vetores infectados que realmente conseguem se fixar no hospedeiro (Mahoney & Ross, 1972). Em situações de estabilidade enzoótica, a taxa de inoculação deve ser em torno de 0,005. Na Austrália, são necessárias cerca de 40 teleógenas parasitando bovinos *Bos indicus* diariamente para se manter esta taxa de inoculação e assim manter a estabilidade para TPB (Mahoney & Ross, 1972; Mahoney & Mirre, 1979). Segundo estudo feito por Honer (1988), em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, para se obter uma taxa de inoculação de 0,008 o bovino deve receber aproximadamente 20 picadas por dia. No entanto, esses dados necessitam ser validação para outras regiões do Brasil, uma vez que as taxas de inoculação podem variar consideravelmente nas diversas regiões do país.

2.4.1. Prevalência da TPB no Brasil

Os estudos sobre a prevalência da TPB utilizam principalmente os métodos de diagnóstico sorológicos como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), o ensaio

imunoenzimático indireto (ELISA) ou o teste de fixação de complemento (FC).

O teste de FC é uma técnica complexa, que consome muito tempo e tem baixa sensibilidade na detecção de animais na fase crônica da doença, sendo por isso pouco empregado.

O ELISA tem alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico de infecções por *B. bovis* (Barry et al., 1982), *B. bigemina* (O'Donoghue et al., 1985) e *A. marginale* (Barry et al., 1986), porém é uma técnica que requer material e equipamentos mais dispendiosos quando comparado com a RIFI. Machado (1991), utilizando o ELISA, detectou anticorpos anti-*B. bovis* da classe IgG nove dias após a inoculação experimental. Os níveis de anticorpos permaneceram elevados até o 233º dia de experimento apesar de o declínio dos níveis de IgG ter ocorrido no 72º dia. Anticorpos da classe IgM contra *B. bovis* foram detectados 11 dias após a inoculação experimental e a partir do 33º dia houve um decréscimo significativo nos níveis (Gonçalves et al., 1999). A detecção de anticorpos da classe IgM e IgG anti-*B. bigemina* pelo ELISA ocorreu no sétimo dia após a inoculação, persistindo até o 49º dia. Porém os níveis de IgM declinaram a partir do 28º dia (O'Donoghue et al., 1985).

A RIFI é uma prova simples, de custo reduzido, sensível e de alta especificidade (Alonso et al., 1992). Anticorpos da classe IgG são detectados 19 dias após a inoculação experimental (James et al., 1981), e, após o desafio, os níveis permanecem constantes por pelo menos 19 semanas (Gonçalves et al., 1997).

No início da parasitemia por *A. marginale*, a síntese de anticorpos é da classe IgM, e durante a fase patente da infecção surgem as imunoglobulinas IgG (Murphy et al., 1966).

A TPB é endêmica na maior parte do território brasileiro, onde se criam bovinos devido à ocorrência dos vetores. A maioria dos casos clínicos ocorrem nas localidades em que os rebanhos são formados principalmente por *Bos taurus* ou seus cruzamentos (Montenegro, 1992).

Na região Sul, encontram-se áreas livres de babesiose, no extremo Sul do estado do Rio Grande do Sul, abaixo de 33º S. Áreas de

instabilidade endêmica são encontradas na fronteira do Rio Grande do Sul com o Uruguai e no planalto do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (31,3–33º S) com prevalência de 68,4% de anticorpos anti-*B. bigemina* e 61% anti-*B. bovis*. A área endêmica do estado encontra-se entre os paralelos 30,3º S–31,3º S, com prevalência de 94,2% de anticorpos anti-*B. bigemina* e 93% anti-*B. bovis* (Montenegro, 1992; Kessler & Schenk, 1998).

No Nordeste, devido ao clima seco, criam-se áreas de instabilidade no sertão da Bahia, Pernambuco e Ceará (Kessler & Schenk, 1998). Nos municípios de Bandeirantes, Camapuã, Campo Grande, Corguinho, Rio Negro, Rio Verde, Rochedo e Terenos, no estado do Mato Grosso do Sul, um inquérito sorológico caracterizou a área como uma região de instabilidade enzoótica sujeita a surtos de babesiose e anaplasmoze, pois a prevalência de anticorpos anti-*A. marginale*, anti-*B. bigemina* e anti-*B. bovis* foi de 7,95%, 12,89% e 19,04% respectivamente (Madruga et al., 1983).

Nas demais áreas, devido às condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do carrapato, durante todo o ano, a situação é de estabilidade endêmica (Kessler & Schenk, 1998). A prevalência de anticorpos anti-*B. bovis* e anti-*B. bigemina* em Goiânia é próxima de 100% em animais de zero a 12 meses de idade, caracterizando-se a área como de estabilidade enzoótica (Linhares, et al., 1992).

A prevalência de anticorpos anti-*Anaplasma* em bovinos adultos na Zona da Mata, no estado de Minas Gerais, é de 81,1% indicando que a transmissão pelos vetores não é constante durante todo o ano o que causa uma instabilidade na endemicidade da doença (Ribeiro, et al., 1984). A prevalência média de anticorpos anti-*B. bigemina* e anti-*B. bovis* é de 79% e 82,5% respectivamente (Patarroyo et al., 1987).

Apesar da alta prevalência de animais positivos para a TPB no estado de Minas Gerais, esta síndrome foi apontada em um inquérito de opinião aplicado a proprietários rurais como a segunda maior causa de morte de bezerras (Leite, 1982). Por isso se faz necessário avaliar o estado imunológico dos rebanhos, principalmente durante programas de controle dos vetores da TPB, para assegurar que a endemicidade da

doença está sendo mantida (Mahoney & Ross, 1972).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local do Experimento

O experimento foi realizado na fazenda Pedra Riscada, localizada no município de Carlos Chagas (17° latitude e 40° longitude), vale do Mucuri, Nordeste do estado de Minas Gerais.

Esta propriedade detém um plantel médio de 1200 reses, composto de aproximadamente 400 matrizes Tabapuã de elevada seleção genética, destinadas à reprodução e ao cruzamento industrial da maior parte do rebanho, onde as fêmeas destinam-se à venda para a produção de leite e os machos são recriados e enviados ao abate.

Em 1992 foi detectado elevado grau de resistência genética dos carrapatos *B. microplus* aos acaricidas comerciais, o que obrigou a aplicação média de 12 tratamentos anuais, para o controle da população de carrapatos. A partir desta avaliação foi implantado um programa de controle estratégico integrado contra verminoses, carrapatos, bernes e "mosca dos chifres", de acordo com os dados epidemiológicos regionais.

Este programa consistiu inicialmente de seis tratamentos carrapaticidas-bernicidas, efetuados a partir do mês de abril de cada ano, a intervalos de 25 dias e de três tratamentos anti-helmínticos nos meses de maio, julho e setembro nos animais de seis a 24 meses. A partir do ano de 1995, o programa permitiu reduzir de seis para quatro tratamentos estratégicos anuais para controlar a população de carrapatos.

3.2. Animais

Os animais utilizados no experimento eram machos mestiços Holandês x Tabapuã, identificados com brinco numerados na orelha direita. Estes animais foram divididos em dois lotes, o lote um (L1) composto de 54 animais recém desmamados, de seis a sete meses de idade, filhos de um único touro. O lote dois (L2) composto de 54 animais de 17 a 19 meses de idade, oriundos de inseminação artificial.

Os animais de cada lote foram ordenados de forma decrescente segundo a carga parasitária, para sorteio em dois grupos, compostos da seguinte forma:

Grupo vacinado:		
Nº de bovinos	Idade (Meses)	Tratamento
36	6	Químico e vacina
36	17	Químico e vacina

Grupo controle – (não vacinado):		
Nº de bovinos	Idade (meses)	Tratamento
18	6	Químico
18	17	Químico

Os bovinos vacinados e controle de seis meses de idade foram mantidos em piquetes separados durante todo o experimento, assim como os de 17 meses de idade. Para manter a carga animal de 0,8 cabeças por ha/ano introduziu-se, em cada grupo, animais da mesma idade e composição racial que receberam os mesmos tratamentos.

3.3. Tratamentos

O teste com a vacina TickGard Plus foi implantado no início do programa estratégico contra carrapatos do ano de 1996, no dia 03/05 nos bovinos de seis meses de idade e no dia 31/05 nos bovinos de 17 meses de idade, momento estratégico para imunização contra as infestações do *B. microplus*, entre a terceira e quarta gerações deste ixodídeo. Pois é a partir deste período que ocorre os picos de infestação nos bovinos nesta região. Porém, devido ao programa de controle químico estratégico que vem sendo empregado na propriedade, desde 1992, a população de carrapatos tem-se mantido sob controle. O controle estratégico é realizado entre os meses de maio e agosto. Os banhos carrapaticidas realizados fora deste período consistem em tratamentos táticos.

Todos os animais vacinados e não vacinados das duas faixas etárias foram tratados por aspersão com Amitraz a 12,5% (laboratório – Hoechst Roussel) no início do experimento. O tratamento foi repetido em todos os bovinos de seis meses de idade na 14ª e 22ª semanas após o início do experimento. Este último banho foi um tratamento tático. Todos os bovinos de 17 meses

de idade receberam um banho estratético no início do experimento e um tratamento carrapaticida tático na 18ª semana após o início do experimento. Estes foram os únicos tratamentos realizados nos bovinos do grupo controle das duas faixas etárias.

Os animais vacinados das duas faixas etárias receberam 2ml (50µg de antígeno) da vacina TickGard Plus (CSIRO e Biotech Australia Pty), via intramuscular, no pescoço. Os animais vacinados das duas faixas etárias receberam a primeira dose da TickGard Plus no dia zero. Os animais de seis meses de idade receberam três doses de reforço na 4ª, 14ª e 22ª semanas de experimento e os bovinos de 17 meses de idade receberam apenas dois reforços da vacina na 4ª e 14ª semanas após o início do experimento.

3.4. Determinação do número total de carrapatos

A contagem de carrapatos foi realizada no início do experimento nos quatro lotes e repetida a intervalos de aproximadamente 15 dias.

A carga parasitária foi avaliada através da contagem das fêmeas adultas do carrapato com comprimento igual ou superior a 3 mm, sobre toda a superfície do lado esquerdo do animal, com base na metodologia empregada por Wharton e Utech (1970). Para se obter a carga parasitária total, esse número foi multiplicado por dois e acrescido de um, para evitar a ocorrência de contagens com valores iguais a zero.

3.5. Coleta de Soro

As amostras de soro foram obtidas através da coleta de sete a dez ml de sangue em tubos de "vacutainer", sem anticoagulante, através de punção jugular. Após a coleta o sangue foi mantido à temperatura ambiente por aproximadamente cinco horas. Em seguida foi centrifugado a 400g por 5 minutos e o soro separado e armazenado a -20°C até o momento de ser analisado. As amostras foram coletadas no início de cada experimento e a intervalos de aproximadamente 30 dias ao longo do estudo.

3.6. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

A RIFI foi empregada para determinar os níveis de anticorpos anti-*B. bovis*, anti-*B. bigemina* e anti-*A. marginale*. Optou-se por esta técnica devido a sua alta sensibilidade e especificidade, além da facilidade de execução.

Os antígenos foram preparados no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária (DMVP-EV) da UFMG e as reações foram feitas segundo a técnica descrita no IICA (1987). No momento do uso, as lâminas com o antígeno foram descongeladas e marcadas com esmalte em forma de impressões circulares. Os soros controle (positivo e negativo) foram diluídos em PBS resfriada na proporção de 1:100. Os soros teste foram titulados através de diluições quádruplas a partir de 1:40. Essas diluições foram colocadas em cada uma das impressões da lâmina e incubadas em câmara úmida a 37°C por 30 minutos. Após a incubação as lâminas foram lavadas três vezes com PBS e três vezes com água destilada, por cinco minutos cada. Em cada impressão, foram colocados 5 µl de conjugado anti-IgG bovina marcada com isotiocianato de fluoresceína (produzido no DMVP-EV da UFMG) diluído em PBS-tween. As lâminas foram novamente incubadas e lavadas como descrito acima. Depois de secas, as lâminas foram cobertas com uma fina camada de glicerina tamponada (nove volumes de glicerina e um volume de PBS 1x) e laminula para serem examinadas ao microscópio de imunofluorescência (IICA, 1988).

O soro foi considerado como positivo quando apresentava reação a partir da diluição de 1:40, e para os resultados finais considerou-se a maior diluição reativa.

3.7. Dados Meteorológicos

Os dados climatológicos de índices pluviométricos e temperatura do ar (mínimas, médias e máximas) foram obtidos junto ao 5º Distrito de Meteorologia de Minas Gerais, para a região de Carlos Chagas, Minas Gerais, durante o ano de 1996.

3.8. Análise Estatística

Com o objetivo de estabilizar a variância dos dados referentes à contagem de carrapatos, procedeu-se à transformação logarítmica, uma vez que o desvio padrão, em função de características próprias das populações de carrapatos, varia proporcionalmente às médias (Sampaio, 1998).

A eficiência da vacina foi analisada empregando-se o Teste de Variância e o Teste t de Student. O Teste de Mann-Whitney (não paramétrico) foi empregado na análise dos dados de titulação de anticorpos (Sampaio, 1998).

4. RESULTADOS

4.1. Dados Climatológicos

Os dados climatológicos mensais relativos à precipitação pluviométrica e temperaturas médias registrados na região estudada são apresentados na Figura 1. A região apresenta características de clima tropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco, típicas de clima do tipo Aw, segundo a classificação climática de Köppen (Antunes, 1986). A menor temperatura média (20,3°C) foi registrada no mês de abril e o mês mais quente foi fevereiro, registrando 27,4°C. A precipitação pluviométrica em 1996 foi de 973,74 mm, sendo que 69,45% das chuvas ocorreram nos meses de setembro a dezembro. O período mais seco ocorreu entre maio e agosto.

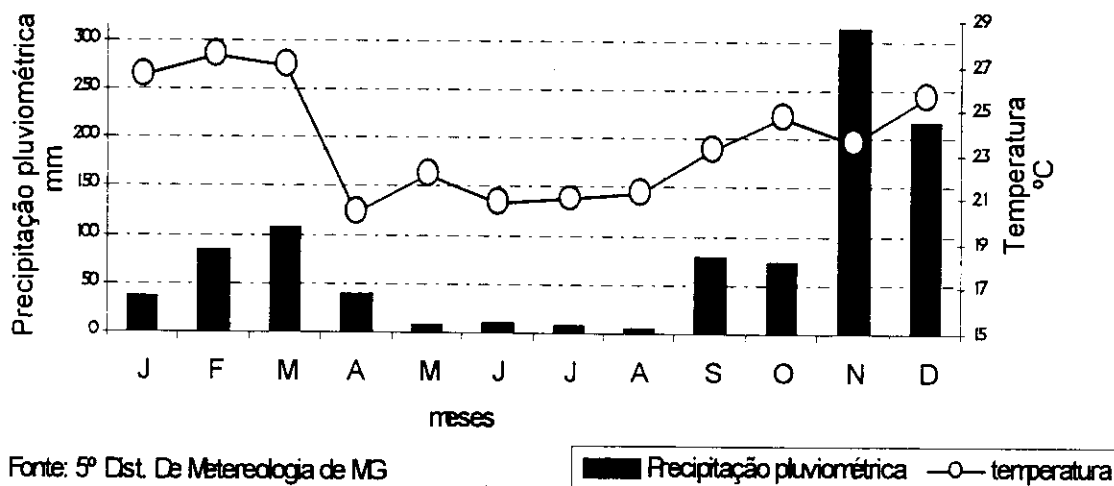


Figura 1 – Temperatura média e precipitação pluviométrica da região de Carlos Chagas, MG, no ano de 1996.

4.2. Infestação por *B. microplus*

No início do experimento, os bovinos de seis meses e os de 17 meses de idade não apresentaram diferença significativa quanto a infestação de *B. microplus*.

Durante todo o experimento, observou-se a presença de carrapatos nos bovinos tanto nos animais vacinados quanto nos não vacinados, nas duas faixas etárias. A contagem de carrapatos nos bovinos variou de zero a no máximo 738 carrapatos por animal.

A dinâmica da infestação de *B. microplus*, em animais vacinados e não vacinados, observada no período de abril a dezembro de 1996, é apresentada nas Tabelas 1 e 2. Nos bovinos não vacinados, a partir de seis meses de idade e a partir de 17 meses de idade, houve aumento da carga parasitária a partir do mês de agosto e os picos de infestação ocorreram entre setembro e dezembro. No grupo de bovinos de seis meses de idade vacinados e não vacinados, os banhos carrapaticidas reduziram a infestação de carrapatos durante quatro semanas, quando

ocorreu um aumento da infestação de *B. microplus* como mostrado na tabela 1. Porém, nos bovinos não vacinados de 17 meses de idade, a eficácia do banho carrapaticida foi de duas semanas, conforme tabela 2.

Nos bovinos vacinados de seis meses de idade, a infestação de carrapatos foi significativamente menor do que nos animais não vacinados a partir da 14ª semana, setenta dias após o primeiro booster da vacina TickGard Plus, resultado apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Infestação média por *B. microplus* em animais a partir de seis meses de idade vacinados e não vacinados na Fazenda Pedra Riscas, Carlos Chagas, MG, maio – dezembro, 1996.

	Data	Semanas	Vacinados	Não vacinados
1ª dose da vacina/banho →	03/05	0	8,7 ^a ± 9,2	9,8 ^a ± 11,2
2º dose da vacina →	31/05	4	6,0 ^a ± 11,9	2,9 ^a ± 2,1
	12/07	10	10,8 ^a ± 13,2	2,9 ^b ± 2,1
3º dose da vacina/2º banho →	09/08	14	12,2 ^a ± 16,5	43,2 ^b ± 24,8
	23/08	16	1,4 ^a ± 1,2	21,7 ^b ± 20,3
	06/09	18	2,3 ^a ± 6,7	8,3 ^b ± 9,3
	20/09	20	53,1 ^a ± 38,4	64,7 ^b ± 34,7
4º dose da vacina/3º banho →	04/10	22	72,1 ^a ± 117,9	76,1 ^b ± 52,2
	01/11	26	52,7 ^a ± 70,2	13,4 ^b ± 30,7
	18/11	28	15,0 ^a ± 13,9	3,7 ^b ± 2,8
	29/11	30	14,3 ^a ± 23,4	59,3 ^b ± 47,5
	13/12	32	127,9 ^a ± 94,3	64,4 ^a ± 41,0

índices com caracteres diferentes indicam diferença significativa (p<0,05)

Os animais vacinados permaneceram com menor infestação de carrapatos em relação ao grupo controle até a 22ª semana do experimento, 56 dias após a terceira dose da vacina. O período de menor infestação de *B. microplus* no grupo vacinado foi o mês de agosto, com contagens sempre inferiores a 13 carrapatos por animal. Na segunda quinzena do mês de setembro, as infestações por carrapatos tanto no grupo controle quanto no vacinado foi superior a 50 carrapatos/animal. Após a quarta dose da vacina, os animais vacinados apresentaram uma infestação igual ou superior ao do grupo controle, exceto na 30ª semana do experimento.

Os resultados da contagem média de carrapatos dos bovinos de 17 meses de idade são apresentados na Tabela 2. Neste lote, os animais vacinados apresentaram infestação significativamente menor 28 dias após a primeira dose da vacina. Este grupo recebeu dois reforços da TickGard Plus. A infestação de carrapatos do grupo vacinado permaneceu, a maior parte do experimento, significativamente menor do que a do grupo não vacinado. A contagem média de carrapatos nos animais vacinados foi inferior a 22 carrapatos/animal, exceto na 16ª e 20ª semanas após o início do experimento, mas mesmo nestas datas a infestação permaneceu abaixo de 40 carrapatos/bovino.

Tabela 2 – Infestação média por *B. microplus* em animais a partir de 17 meses de idade vacinados e não vacinados na Fazenda Pedra Riscada, Carlos Chagas, MG, maio – novembro, 1996.

	Data	Semana	Vacinados	Não vacinados
1ª dose da vacina/banho →	31/05	0	4,9 ^a ± 46,7	3,0 ^a ± 2,4
2º dose da vacina→	28/06	4	13,4 ^a ± 20,0	13,2 ^b ± 8,9
	09/08	10	5,1 ^a ± 5,2	13,6 ^b ± 9,8
3º dose da vacina/2º banho →	06/09	14	21,8 ^a ± 21,9	179,8 ^b ± 120,7
	20/09	16	29,5 ^a ± 40,5	29,7 ^a ± 38,5
	04/10	18	5,2 ^a ± 5,4	107,8 ^b ± 156,4
	18/10	20	38,7 ^a ± 50,2	24,3 ^b ± 22,6
	01/11	22	4,0 ^a ± 5,5	40,2 ^b ± 43,5

índices com caracteres diferentes indicam diferença significativa (p<0,05)

Ao se comparar os grupos vacinados e não vacinados das duas faixas etárias pelo teste de variância, verificou-se que os animais dos grupos vacinados apresentaram infestação significativamente menor (p<0,05) de carrapatos que os animais não vacinados. Não foram observadas diferenças significativas entre as infestações dos bovinos vacinados das diferentes faixas etárias, exceto na 22ª semana de experimento, quando o lote de bovinos de 17 meses de idade apresentou infestação de carrapatos significativamente menor do que os de seis meses de idade.

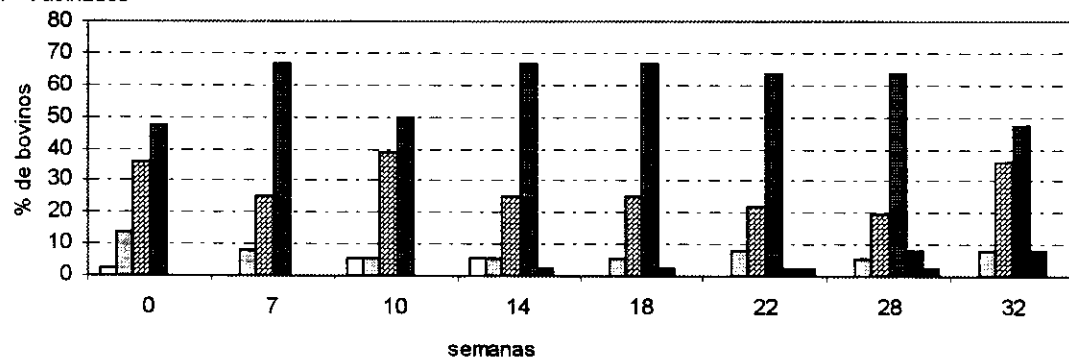
4.3. Sorologia

4.3.1. Animais de seis meses de idade

4.3.1.1. *Babesia bovis*

No início do experimento, a porcentagem de bovinos negativos para *B. bovis* foi de 5,6% no grupo vacinado e de 11,1% no grupo não vacinado. Todos os animais do lote não vacinado apresentaram soroconversão a partir da 10ª semana e os bovinos do lote vacinado a partir da 18ª semana. Durante todo o experimento, no grupo vacinado, pelo menos 45% dos animais apresentaram titulação de 1:640 e foi também neste grupo em que a diluição de 1:1280 foi mais freqüente. Já no grupo não vacinado a titulação mais freqüente foi a de 1:160. Os resultados estão apresentados na Figura 2 (A e B) havendo diferença significativa apenas nas 14ª, 18ª e 22ª semanas.

A - Vacinados



B - Controle

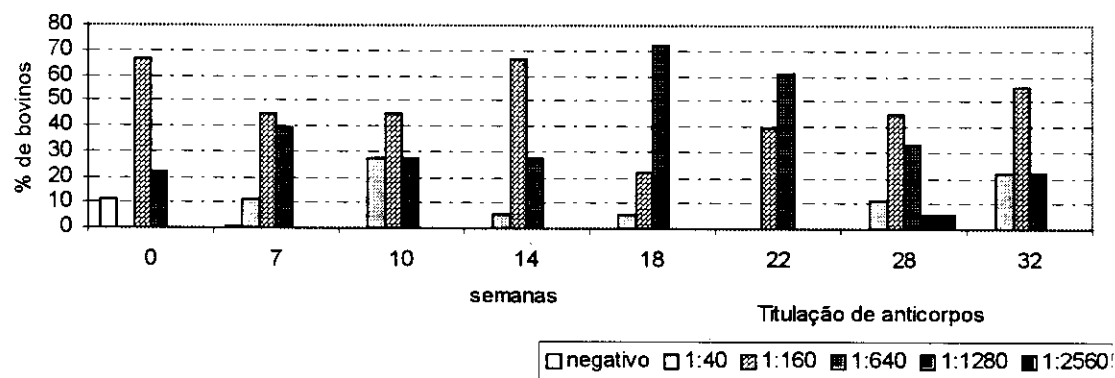


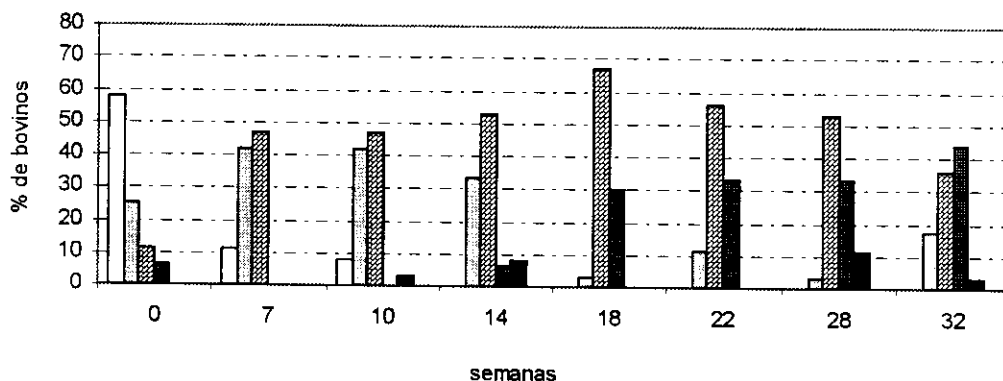
Figura 2 – Frequência de anticorpos anti-*B. bovis* em bovinos a partir de seis meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B), Carlos Chagas, MG, 1996.

4.3.1.2. *Babesia bigemina*

Quanto à *B. bigemina* foram detectados animais negativos no grupo vacinado e não vacinado até as 10ª e 7ª semanas respectivamente. Na primeira semana, a porcentagem de negativos nestes grupos foi de 58,3% e 16,7% respectivamente. A Figura 3A apresenta os resultados ao longo do

experimento no grupo vacinado, no qual foi observado um aumento gradual da porcentagem de bovinos com titulação igual ou maior a 1:160. Já no grupo não vacinado (Figura 3B), a maioria dos animais apresentou uma titulação entre 1:40 e 1:160. Nas 7ª, 14ª e 18ª semanas observou-se diferença significativa entre os grupos vacinados e não vacinados.

A - Vacinados



B - Controle

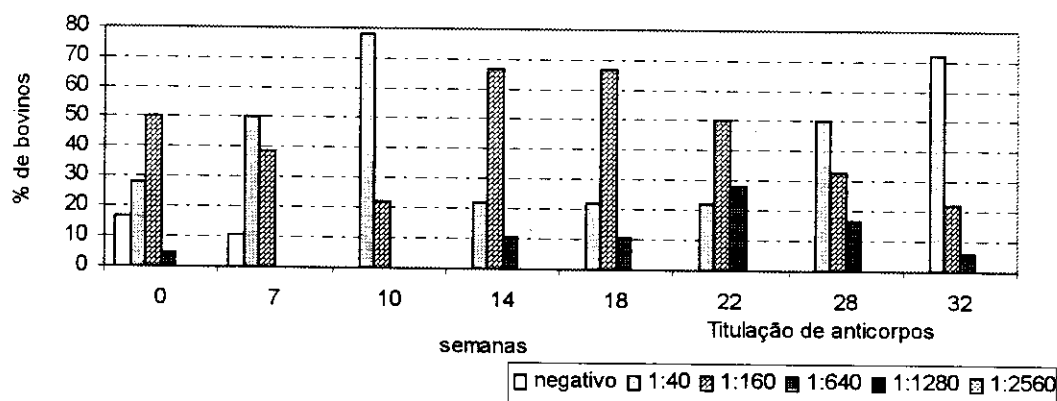


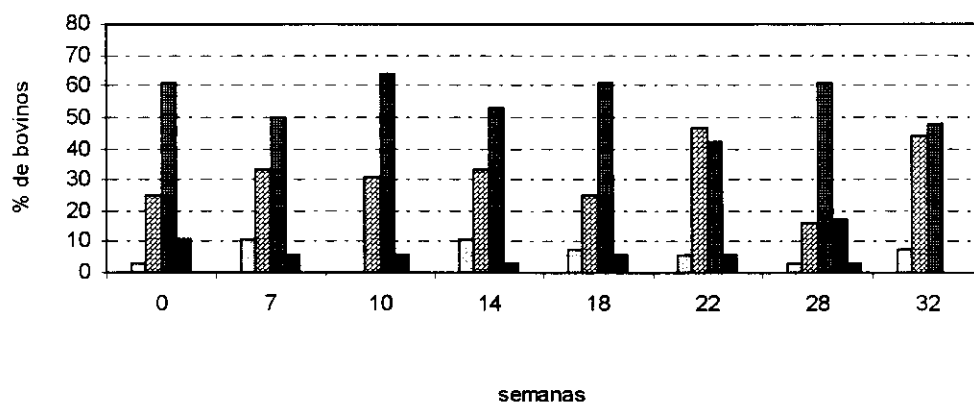
Figura 3 – Frequência de anticorpos anti *B. bigemina* em bovinos a partir de seis meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B), Carlos Chagas, MG, 1996.

4.3.1.3 *Anaplasma marginale*

Deste o início do experimento todos os bovinos, tanto do grupo vacinado quanto do não vacinado, eram positivos para *A. marginale*, conforme apresentado na Figura 4 (A e B)

respectivamente. No grupo vacinado, pelo menos 50% dos bovinos apresentou titulação de 1:640. Ao comparar os dois grupos, nas 7ª, 14ª, 18ª e 32ª semanas observou-se diferença significativa.

A - Vacinados



B - Controle

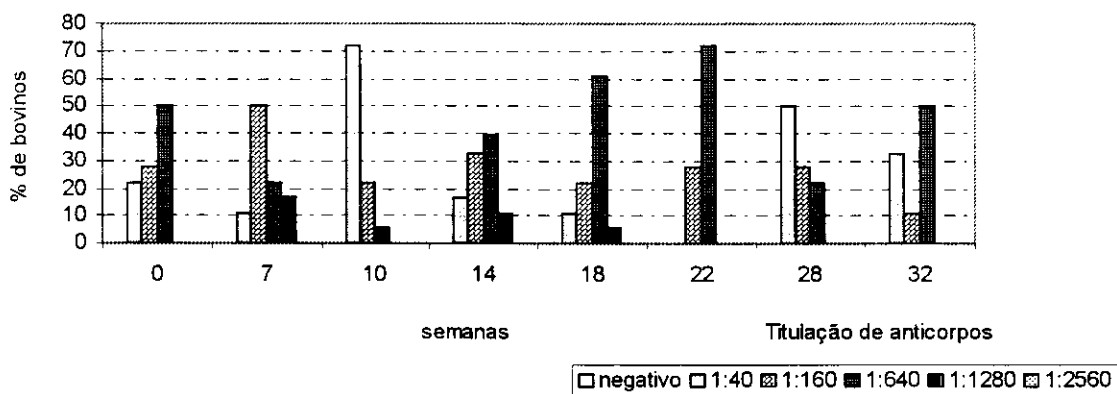


Figura 4 – Frequência de anticorpos anti *A. marginale* em bovinos a partir de seis meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B). Carlos Chagas, MG. 1996

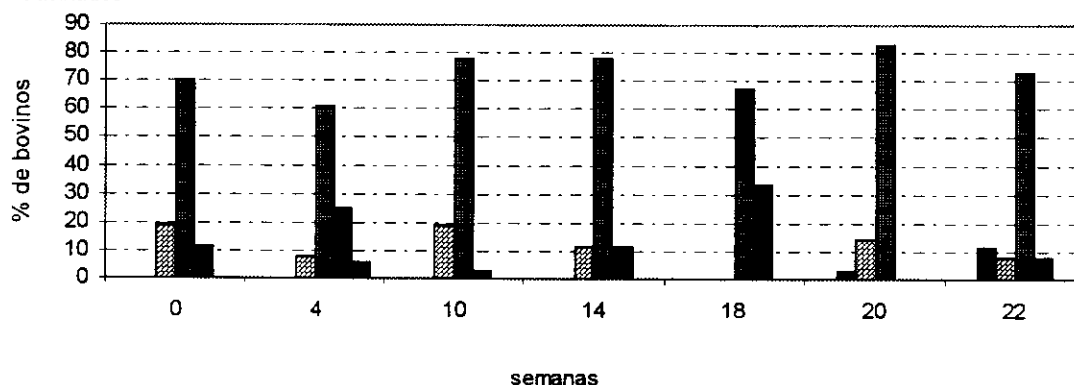
4.3.2. Animais de 17 de meses de idade

4.3.2.1. *Babesia bovis*

A Figura 5 (A e B) apresenta os resultados dos animais do lote vacinado e não vacinado. Ao comparar os resultados da RIFI para *B. bovis* destes dois lotes observou-se diferença

significativa no início do experimento, na 4ª e 22ª semanas. Apenas 5,6% dos bovinos do grupo não vacinado estavam negativos para *B. bovis* na primeira observação. Tanto no grupo vacinado quanto no não vacinado pelo menos 60% dos bovinos apresentou titulação de 1:640.

A - Vacinados



B - Controle

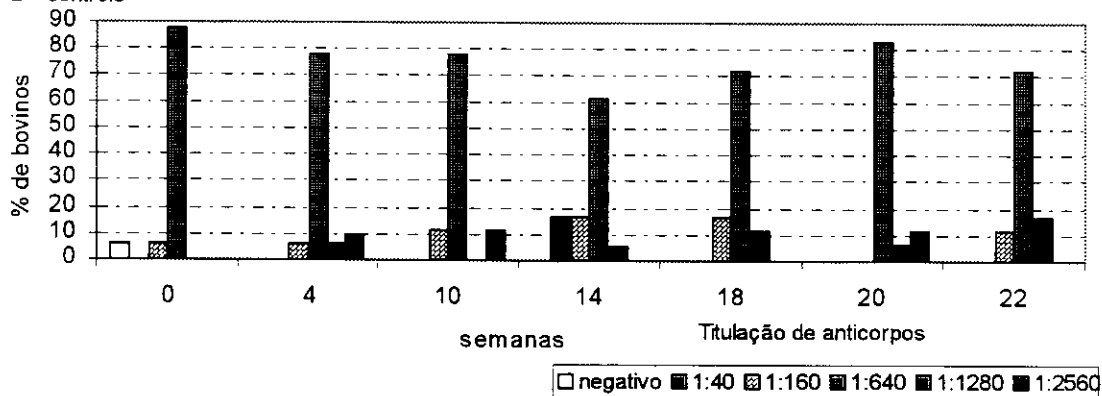


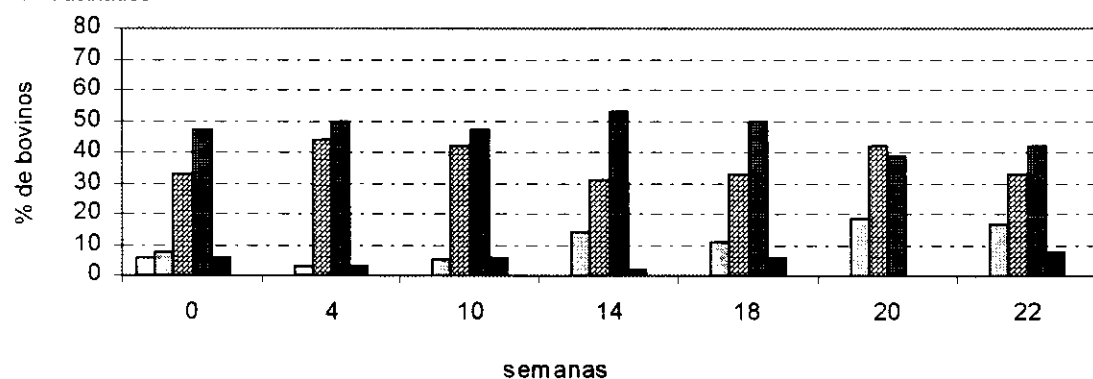
Figura 5 – Frequência de anticorpos anti *B. bovis* em bovinos a partir de 17 meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B), Carlos Chagas, MG, 1996.

4.3.2.2. *Babesia bigemina*

Os resultados da RIFI para *B. bigemina* dos bovinos vacinados e não vacinados estão

apresentados na Figura 6 (A e B). O grupo vacinado e não vacinado apresentou no início do experimento uma prevalência de 5,6% de bovinos negativos.

A - Vacinados



B - Controle

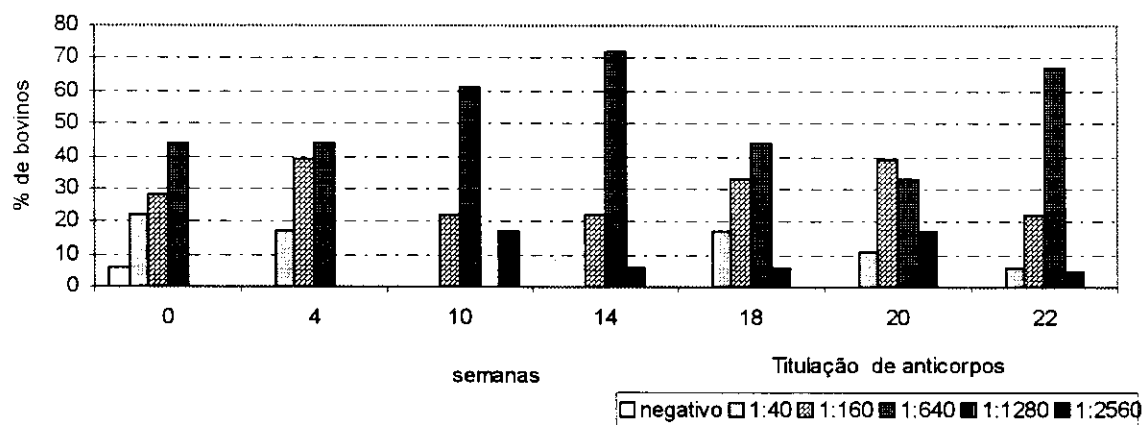


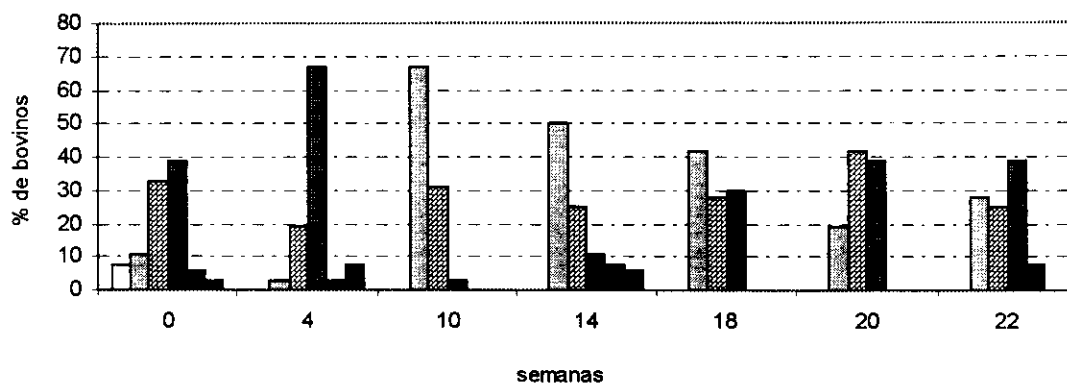
Figura 6 – Frequência de anticorpos anti *B. bigemina* em bovinos a partir de 17 meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B), Carlos Chagas, MG, 1996.

4.3.2.3. *Anaplasma marginale*

A porcentagem de animais negativos para *A. marginale* no início do experimento foi de 5,6% e de 8,3% no grupo não vacinado e vacinado

respectivamente. Da quarta semana em diante, todos os bovinos apresentaram-se positivos através da RIFI, como observado na Figura 7 (A e B).

A - Vacinados



B - Controle

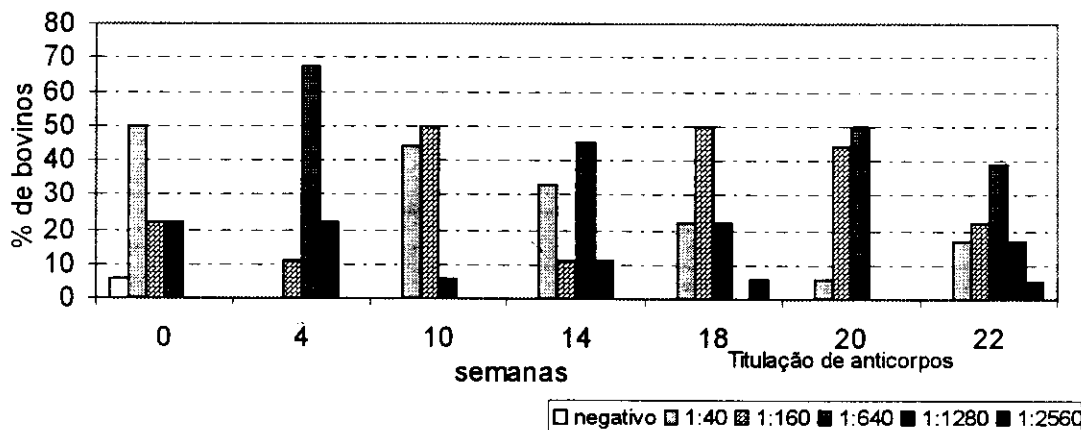


Figura 7 – Frequência de anticorpos anti *A. marginale* em bovinos a partir de 17 meses de idade vacinados com TickGard Plus (A) e não vacinados (B), Carlos Chagas, MG, 1996.

5. DISCUSSÃO

5.1. Infestação por *B. microplus*

As condições climáticas observadas no município de Carlos Chagas permitiram o desenvolvimento do *B. microplus* ao longo do ano, do mesmo modo como ocorre em outras áreas do estado de Minas Gerais (Moreno, 1984; Oliveira, 1993).

Nesta região, o período de maior infestação é entre os meses de abril e agosto, período seco e de temperaturas mais baixas, pois no verão a temperatura, principalmente do solo, é muito alta, acarretando a morte das larvas. As larvas

que parasitavam os bovinos, nesta época, são as que eclodiram no final do verão e durante o outono, correspondendo à terceira e à quarta gerações do *B. microplus*. A temperatura média de 21,1°C, nestes meses, possivelmente acarretou uma diminuição da produção de ovos, um aumento do período de incubação e uma diminuição da eclodibilidade dos mesmos, prejudicando o desenvolvimento dos estádios de vida livre e fazendo com que todo o ciclo se alongasse (Farias & Zambrano, 1997). Na área estudada, a umidade relativa do ar (URA), no inverno, foi de 53%, o que contribuiu para a diminuição da eclodibilidade dos ovos que só ocorre numa umidade de no mínimo 70% Magalhães, 1989). O estágio larval não

parasitário é a forma evolutiva do *B. microplus* mais sensível às baixas temperaturas e à URA

Com a elevação da temperatura na primavera, os ovos postos no outono e no inverno, que estavam nas pastagens, reiniciaram seu desenvolvimento e eclodiram. Estas larvas, juntamente com as que eclodiram no final do verão e sobreviveram ao período do inverno, causaram a elevação repentina da infestação de *B. microplus* nos bovinos, no mês de setembro, correspondendo ao surgimento da primeira geração de carrapatos. Em Carlos Chagas, assim como a região Metalúrgica de Minas Gerais (Magalhães, 1989), as condições climáticas favoráveis registradas a partir de setembro, com temperaturas mais elevadas e baixa precipitação pluviométrica favoreceram o desenvolvimento da fase não parasitária. A URA ótima para a sobrevivência máxima das larvas é de 90–95%, porém as atmosferas saturadas não são favoráveis (Snowball, 1957). No presente trabalho, observou-se uma URA de 75% entre os meses de setembro a dezembro, o que permite boa eclosão dos ovos, porém a temperatura mais elevada e umidade abaixo de 80% diminuem a longevidade das larvas. Apesar de a temperatura média da região entre os meses de setembro e dezembro (24,3°C) ter sido abaixo daquela considerada ideal (27,0°C), a infestação de carrapatos observada neste período, principalmente nos grupos controle, foi alta. Este fato é resultado do aumento da população de larvas nas pastagens em decorrência de maior postura de ovos e encurtamento do período de incubação dos mesmos, determinando maior infestação dos animais a partir desta época do ano, o que é resultante do parasitismo da segunda e terceira gerações do *B. microplus*.

Os períodos de menor e de maior infestação dos animais na região estudada coincidem com aqueles da Região Metalúrgica de Minas Gerais, assim como o número de gerações do *B. microplus* (Magalhães, 1989) e também com os resultados observados no Sul do Estado (Fonseca et al., 1997) e no Triângulo Mineiro (Silva et al., 1997).

O grau de infestação de carrapatos no hospedeiro é o principal indicador para avaliar a eficácia de imunógenos contra carrapatos (Opdebeeck et al., 1988). Porém a redução do peso das teleógenas e a redução da postura são também indicativos de

eficácia das vacinas contra carrapatos (Willadsen et al., 1989). No presente trabalho, observou-se que o grau de infestação dos carrapatos foi significativamente menor ($p < 0,05$) nos bovinos vacinados.

A utilização de vacinas à base de extrato bruto do intestino de fêmeas parcialmente ingurgitadas no controle de infestações artificiais de *B. microplus*, em bovinos, resultou em proteção de 86% (Opdebeeck et al., 1988). Willadsen et al. (1989) utilizando três doses da vacina contendo antígeno purificado (Bm 86) obtiveram redução de 65% da infestação de carrapatos e considerando os efeitos da vacina na diminuição da postura e da viabilidade dos ovos, houve uma redução de 92% da infestação de larvas no ambiente. Isto porque as fêmeas ingurgitadas que sobrevivem têm uma postura menor, pois ao se desprenderem do bovino, têm um peso corporal menor (Opdebeeck et al., 1988). Este mesmo antígeno, na forma recombinante, demonstrou eficiência entre 50 e 90% na redução do número de *B. microplus* no hospedeiro (Cobon et al., 1991; Fuente et al., 1995; Rodríguez et al., 1995). A eficiência da vacina recombinante, testada em condições de infestações naturais, reduziu tanto a infestação de carrapatos quanto o número de tratamentos químicos (Massard et al., 1995; Rodríguez et al., 1995), e se mostrou com igual eficiência no controle de carrapatos resistentes e não resistentes a acaricidas (Fuente et al., 1995).

Nas condições estudadas, a eficiência da vacina TickGard Plus oscilou entre 18 e 93% no lote de animais jovens e entre 62 e 95% nos animais de 17 meses de idade. Os maiores níveis de eficiência da vacina foram obtidos quando a população de carrapatos estava baixa, outono/inverno, concordando com as observações de Fuente et al. (1995). Rodríguez et al. (1995) mostraram que, em condições de baixo desafio parasitário, somente com o emprego da vacina controla-se a infestação de carrapatos. Porém, em condições de alto desafio, a vacina deve ser utilizada associada a tratamentos carrapaticidas para evitar superpopulações de carrapatos, garantindo sua melhor eficácia (Willadsen et al., 1995). Como as condições de Carlos Chagas favoreceram o desenvolvimento do carrapato durante todo o ano, fez-se necessária a utilização de tratamentos táticos para controlar a sua infestação. Entretanto, nos

bovinos de 17 meses de idade, foi possível diminuir o número de tratamentos químicos (de quatro para dois), resultado semelhante ao observado por Massard et al. (1995).

A infestação média de carrapatos nos bovinos de seis meses de idade, tanto nos animais vacinados quanto nos controle, foi maior do que os bovinos de 17 meses de idade. Este achado pode ser decorrente da instabilidade da resistência ao carrapato que os bovinos apresentam entre os oito e 12 meses de idade (Verissimo, 1991).

A redução da infestação de carrapatos nos bovinos de seis meses de idade vacinados foi significativa a partir da 14ª semana e os melhores resultados (infestações inferiores a 10 teleógenas/animal) foram obtidos entre a 16ª a 18ª semanas (agosto/setembro), 15 dias após a segunda dose. Estes resultados diferem daqueles observados por Rodríguez et al. (1995) em Cuba, tanto no aparecimento da eficiência da vacina, que foi na nona semana, quanto à persistência da proteção, que foi de 16 semanas. Apesar de os dois experimentos terem sido iniciados em épocas semelhantes, o trabalho feito por Rodríguez et al. (1995) utilizou bovinos de várias faixas etárias, o que pode, em parte, justificar a diferença de resultados. Os resultados de Hernández et al. (1998b), em condições de campo no Brasil, foram semelhantes aos de Rodríguez et al. (1995). No trabalho feito por Hernández et al. (1998a) a imunização dos bovinos foi feita durante o verão (período de maior desafio parasitário) e com um intervalo menor entre as doses (0, 5 e 7 semana). A diminuição da infestação de carrapatos foi observada a partir do outono, resultando em menor infestação das pastagens no próximo ciclo do parasita.

No presente estudo, a imunização dos bovinos foi realizada durante o outono, período de grande infestação de carrapatos na região. Porém houve um aumento na infestação de carrapatos, a partir da 20ª semana. Como mostra a Tabela 1, portanto a eficiência da vacina na redução da infestação foi muito baixa, principalmente após o fenômeno de "spring-rise", que ocorreu na 22ª semana, quando os animais vacinados apresentaram uma curva de infestação média semelhante e, às vezes pior, ao do grupo controle, mesmo após a quarta dose da vacina. Este resultado mostra que o esquema utilizado

foi pouco eficaz no controle da infestação de carrapatos nos bezerros de seis meses de idade e sugere a necessidade de um tratamento diferenciado para os bovinos desta faixa etária. Hernández et al. (1998a) imunizaram bovinos de diversas faixas etárias, inclusive bezerros de quatro meses de idade, e obtiveram bons resultados. Assim, a imunização dos bovinos no início do verão, como foi feito no referido trabalho, pode ser uma tática promissora ou a redução do intervalo entre os tratamentos químicos poderá auxiliar na melhoria da eficiência da vacinação neste grupo.

No lote de bovinos de 17 meses de idade, o grupo vacinado apresentou infestações de carrapatos significativamente menores ($p < 0,05$) do que o grupo controle. A contagem média de carrapatos variou entre cinco e 20 carrapatos/animal, o que é aceitável do ponto de vista epidemiológico (Mahoney & Ross, 1972), exceto nas 16ª e 20ª semanas de experimento, quando a infestação ultrapassou 25 carrapatos/animal.

Os trabalhos feitos por Rodríguez et al. (1995) e Hernández et al. (1998b) revelam que eles empregaram três doses da vacina e obtiveram redução do número de carrapatos dez semanas após início da imunização. No presente trabalho, a imunização foi feita com três doses da vacina, porém com intervalo maior entre a segunda e a terceira doses. A redução significativa da infestação de carrapatos ocorreu a partir da 14ª semana. Este período maior deve-se provavelmente ao menor estímulo do sistema imune dos bovinos que receberam apenas uma dose de reforço da vacina. Nesta faixa etária, do mesmo modo que nos bovinos de seis meses de idade, mesmo depois da terceira dose da vacina, esta não foi eficaz na redução da infestação durante o período de maior desafio. Após o fenômeno de "spring-rise", na 20ª semana, os animais vacinados apresentaram a maior infestação (38,7 carrapatos por animal), porém a infestação retornou aos níveis do início do experimento na 22ª semana.

5.2. Sorologia.

A vacina foi eficiente na redução da infestação de carrapatos, principalmente no lote de animais mais velhos (17 meses de idade). Porém se faz necessário avaliar se este tipo de controle

estratégico permite níveis de infestações suficientes para a manutenção do estado imune contra a TPB, já que vacinas contra os agentes da TPB não são rotineiramente utilizadas.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o clima, a idade, a raça e o manejo dos animais são importantes fatores que interferem na transmissão dos agentes da TPB (Friedhoff, 1989). Os fatores climáticos influenciam a taxa de infecção dos carrapatos e, conseqüentemente, a transmissão da *Babesia* sp aos hospedeiros. A variação estacional do *B. microplus* afeta a taxa de inoculação do protozoário no hospedeiro. Em locais onde há infestação constante pelo *B. microplus*, a inoculação da *Babesia* sp é freqüente, ocorrendo um equilíbrio entre o bovino e o parasito. Nestas áreas, os bezerros adquirem a *Babesia* sp aproximadamente entre quatro a seis meses de vida, respondendo bem à infecção por ainda apresentarem resistência natural. Vários fatores têm sido associados à resistência natural, entre eles: presença de anticorpos colostrais, maior atividade eritropoiética da medula óssea (Ristic, 1988), rápida resposta celular decorrente da persistência do timo (Buening, 1973) e presença da hemoglobina fetal nos eritrócitos (Anderson et al., 1972). A resistência natural persiste até aproximadamente nove meses de idade e os animais ao serem infectados até esta época apresentam infecção subclínica e adquirem imunidade, caracterizando uma situação de estabilidade enzoótica. A taxa de inoculação determina a estabilidade da TPB e esta encontra-se diretamente relacionada à infestação de carrapatos. Estudos feitos na Austrália, na década de 70, indicaram que infestações entre 10 a 20 carrapatos/animal/dia eram suficientes para manter a estabilidade da endemidade da TPB, (Mahoney & Ross, 1972). No Brasil, Honer (1988) realizou um estudo semelhante que determinou a necessidade de aproximadamente 20 carrapatos/animal/dia para se manter a estabilidade da TPB no estado do Mato Grosso do Sul, porém este dado necessita ser avaliado para outras regiões do país, uma vez que a taxa de inoculação pode variar consideravelmente em decorrência das diferenças regionais.

Em ambas as faixas etárias, não foram observadas diferenças significativas entre os níveis de anticorpos dos animais vacinados e não vacinados indicando que a vacina TickGard Plus

não interferiu na resposta imune humoral contra TPB. Deve-se considerar, entretanto, que o período de observação pode ter sido curto para detectar possíveis influências da carga parasitária sobre a resposta imune.

No presente trabalho pelo menos 85% dos bovinos de nove meses de idade estavam positivos à RIFI para *B. bovis* e para *B. bigemina*. Este resultado demonstra tratar-se de uma área de estabilidade enzoótica para a babesiose, resultado esperado, uma vez que as condições climáticas da área permitem o desenvolvimento do carrapato ao longo de todo o ano.

As Figuras 2 e 3 mostram que todos os bovinos do grupo não vacinado já haviam soroconvertido para *B. bovis* e para *B. bigemina* aos sete meses de idade, enquanto que nos bovinos vacinados a soroconversão de todos os animais só ocorreu aos oito meses de idade para *B. bigemina* e aos dez meses de idade para *B. bovis*. A redução da infestação de carrapatos nos bovinos vacinados atingiu valores tais (1 a 12 carrapatos/animal) que pode ter diminuído a taxa de inoculação de *Babesia* sp (Mahoney & Ross, 1972) resultando em soroconversão mais tardia que a observada por Passos et al. (1997) em Minas Gerais, que foi aos quatro meses de idade. Nos rebanhos com infestações de dois a dez carrapatos/animal/dia, a probabilidade de os animais se infectarem após os nove meses de idade é alta, podendo criar um quadro de instabilidade, com ocorrência de surtos (Mahoney & Ross, 1972).

No lote de bovinos de seis meses de idade não vacinados, a porcentagem de animais reativos apenas na diluição de 1:40 aumentou a partir da 28ª semana, período em que houve um aumento da infestação de carrapatos neste lote. James et al. (1981) relatam que a titulação de anticorpos decresce na RIFI, durante a fase ascendente de parasitemia.

No início do experimento, todos os bovinos de seis meses de idade estavam sorologicamente positivos para o *A. marginale*, indicando tratar-se de uma área endêmica para a doença.

A RIFI demonstrou uma baixa porcentagem (6%) dos animais de 17 meses de idade negativos para *B. bovis* e para a *B. bigemina* como é esperado em uma área endêmica da doença.

Aproximadamente 8% dos bovinos de 17 meses de idade estavam sorologicamente negativos para o *A. marginale*.

As condições climáticas registradas, durante o ano de 1996 na região, tornaram-se favoráveis ao desenvolvimento dos vetores, tanto carrapatos quanto as moscas hematófagas, a partir de outubro, época em que foram observados os maiores títulos sorológicos para os três hemoparasitas, sugerindo que os bovinos estão sendo reinfetados constantemente pelos vetores.

Para que a área continue em uma situação de estabilidade enzoótica, cada geração de carrapatos infectados com os agentes da TPB deve ser substituída por uma outra de igual tamanho para garantir a infecção de pelo menos 75% dos bovinos (Mahoney & Ross, 1972). No presente trabalho o número de carrapatos/animal/dia foi suficiente para garantir a primo infecção dos bezerros antes dos nove meses de idade, apesar de ser menor do que aquela relatada por Honer (1988) como mínima para manutenção da estabilidade.

Como o efeito principal da vacina TickGard Plus é a redução gradual da população de carrapatos, medidas preventivas devem ser tomadas para evitar a ocorrência de surtos no rebanho, principalmente de babesiose, uma vez que índices de infestação de *B. microplus* menores do que as observadas nesta propriedade pode ocasionar uma instabilidade da endemicidade da doença.

A anaplasmosose provavelmente não seria afetada por esta diminuição da população de carrapatos uma vez que a importância do *B. microplus* tem sido questionada nas condições brasileiras (Ribeiro, 1991) e os dípteros hematófagos desempenham um importante papel na transmissão da doença.

A porcentagem de bovinos negativos para os três agentes da TPB foi baixa nas duas faixas etárias, indicando que infestação de dois a dez carrapatos/animal/dia permite a manutenção da estabilidade da TPB na área estudada.

6. CONCLUSÕES

- Nas condições estudadas, a associação entre a vacina TickGard Plus e banhos carrapaticidas mostrou-se eficiente no controle da infestação do *B. microplus*.
- Durante o período de maior desafio da região, o esquema empregado foi eficaz no controle do carrapato, principalmente nos bovinos de 17 meses de idade, e permitiu a redução do número de tratamentos químicos.
- A redução da carga parasitária através da vacinação não afeta os níveis de anticorpos contra os agentes da TPB.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, M.; ARRELANO SOTA, C.; CERESER, V.H. Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Latin America and the Caribbean. *Rev. Sc. Tech. Inter. Epizzo*. v.11, n.3, p.713-733. 1992.
- ALVES-BRANCO, F.P.J.; ECHENARRIA, F.A.M.; SIQUEIRA, A.S. Garça vaqueira (*Egretta ibis*) e o controle biológico do carrapato (*Boophilus microplus*). *Cad. Téc.* n.1, UEPAE, Bagé-RS. 4p. 1983.
- ALVES-BRANCO, F.P.J.; PINHEIRO, AC; SAPER, M.F.M. Controle do *Boophilus microplus* com esquemas de banhos estratégicos em bovinos Hereford. In: CURSO DE PARASITOLOGIA ANIMAL, 1989. Bagé, *Anais ...* Bagé, 1989, p.109-124.
- ANDERSON, I.L; JONES, E.W; MORRISON, R.D; ROLBERT, D. *Anaplasma marginale*: hemoglobin patterns in experimentally infected young calves. *Exp. Parasitol.* v.32, n.2, p.265-271, 1972.
- ANTUNES, F.Z. Caracterização climática do estado de Minas Gerais. *Inf. Agropec.* v.6, n.138, p.9-13, 1986.

- ARANTES, G.J.; MARQUES, A.O.; HONER, M.R. O carrapato do bovino, *Boophilus microplus*, no município de Uberlândia, MG: análise da sua resistência contra carrapaticidas comerciais. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.4, n.2, p.89-93, 1995.
- AYCARDI, E.; BENEVIDES, E.; GARCIA, O.; MATEUS, G.; HENCO, F.; ZULUAGA, F.N. *Boophilus microplus* tick burdens on grazing cattle in Colombia. **Trop. Anim. Health Prod.** v.16, n.2, p.78-84. 1984.
- BARCI, L.A.G.; OLIVEIRA, M.R.; MACHADO, R.Z.; OLIVEIRA, D.A.; ARAUJO FILHO, R.S. Epidemiologia da babesiose bovina no estado de São Paulo. I estudo em rebanhos produtores de leite tipo B do município de Pindamonhangaba, Vale do Paraíba. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.3, n.2, p.79-82. 1994.
- BARRIGA, D.O. A review on vaccination against protozoa and arthropods of veterinary importance. **Vet. Parasitol.** v.55, n.1-2, p.29-55, 1994.
- BARRY, D.N.; RODWELL, B.J.; TIMMIS, P.; MCGREGOR, W. A microplate enzyme immunoassay for detecting and measuring antibodies to *Babesia bovis* in cattle serum. **Aust. Vet. J.** v.59, n.2, p.136-140, 1982.
- BARRY, D.N.; PARKER, R.J.; DE VOS, A.J. A microplate enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibody to *Anaplasma marginale* in cattle serum. **Aust. Vet. J.**, v.63, n.3, p.76-79, 1986.
- BITTENCOURT, V.R.E.P.; MASSARD, C.L.; LIMA, A.F. The use of fungal *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883, on the control of tick *Boophilus microplus*. (Canestrini, 1887). **Arq. UFRRJ.** v.15, n.2, p.197-202, 1992.
- BRUM, J.G.W. & TEIXEIRA, M.O. Doença em teleógenas de *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE) causada por *Cedecea lapagei* e *Escherichia coli*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v.44, n.4, p.441-443. 1992 a.
- BRUM, J.G.W. & TEIXEIRA, M. O Acaracidal activity of *Cedecea lapagei* on engorged female of *Boophilus microplus* exposed to the environment. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v.44, n.6, p.543-544. 1992 b.
- BUTLER, J.F.; CAMINO, M.L.; PEREZ, T.O. *Boophilus microplus* and the fire ant *Solenopsis geminata*. **Rev. Adv. Acaral.** v.1, p.469-472, 1979.
- BUENING, G.M. Cell-mediated immune responses in calves with anaplasmosis. **Am. J. Vet. Res.** v.34, n.6, p.757-763, 1973.
- CALLOW, L.L.; STEWART, N.P.; DALGLIESH, R.J. Transmission of *Babesia bigemina* by transfer of adult male *Boophilus microplus*. **Aust. Vet. J.** v.54, n.4, p.205-206, 1978.
- CAVAGNOLI, J.; MARTINS, R.M.; BARROS, N.; MACHADO, R.M.; MARTINS, J.R.; MADALOSSO, P. Controle biológico do carrapato *Boophilus microplus* através de fungos entomopatogênicos. In: A INTEGRAÇÃO CIENTÍFICA DA MEDICINA VETERINÁRIA NO CONE SUL, 1997. Gramado. **Anais...** Gramado: II Congresso de Medicina Veterinária do Cone Sul, 1997, p.187.
- COBON, G.S.; KEMP, D.; WILLADSEN, P. Cattle tick vaccines. **Tod. Life Sci.** v., p.20-26. 1991.
- COMEDOUROS, K.; SCOTT, F.B.; PASSOS, W.M.; GRISI, L. Avaliação "IN VITRO" da susceptibilidade de larvas de *Boophilus microplus* ao abamectin. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.4, n.2, supl. 1, p.48. 1995.
- DAS, A.; BASU, A.; ANSARI, M.Z.; SAHAI, B. Immunization of rabbits against *Boophilus microplus* using tick extract antigens. I. Feeding pattern and recovery rate of instars of ticks. **Ind. J. Anim. Sci.** v.63, n.11, p.1123-1127. 1993.
- FARIAS, M.A.R.; GONZALVES, J.C.; SAIBRO, J.C. Antibiose e antixenose entre forrageiras e larvas de carrapato do boi. **Pesq. Agrop. Bras.** v.21, n.12, p.1313-1320. 1986.

- FARIAS, N.A. & ZAMBRANO, C.G. Influência da temperatura na fase de vida livre do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (ACARI: IXODIDAE). In: II CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONE SUL. 1997. Gramado. **Anais...** Gramado: Conbravet, 1997, p. 190.
- FLAUSINO, I.R.N.; GOMES, C.C.G.; GRISI, L. Avaliação da resistência do carrapato *Boophilus microplus* ao amitraz e a piretróides, no município de Seropédia, RJ. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.4, n.2, supl.1, p.45. 1995.
- FONSECA, A.H.; PEREIRA, M.J.S.; MAFRA, C.L. Dinâmica populacional do carrapato *Boophilus microplus* **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.6, n.2, suppl.1, p.121, 1997
- FREIRE, J.J. Arsênio e Cloro, resistência e emprego do tiofosfato de dietil paramitrofelina (parathion) na luta anticarrapato *Boophilus microplus* **Bol. Diret. Prod. Anim.** v.9, n.17, p.3-31. 1953.
- FREIRE, J.J. Carrapato Resistente às Balneações Carrapaticidas do Rio Grande do Sul. **Bol. Diret. Prod. Anim.** v.13, n.25, p.62-80. 1956.
- FRIEDHOFF, K.T. Transmission of *Babesia*. In: RISTIC, M. **Babesiosis of domestic animals and man**. Boca Raton: CRC, Florida, 1989. p.23-52.
- FUENTE, J.; RODRÍGUEZ, M.; FRAGOSO, H.; ORTIZ, M.; MASSARD, C.L.; GARCIA, O.; GARCIA, J.C.G.; LLEONART, R. Efficacy of vaccination with GavactTM in the control of *Boophilus microplus* infestations. In: **Recombinant Vaccines for the Control of Cattle Tick**. José de la Fuente, 241 p. 1995.
- FURLONG, J. Controle do carrapato dos bovinos na região sudeste do Brasil. Doenças parasitárias dos bovinos de leite. Coronel Pacheco: **Embrapa-CNPGL**, p.31-54, 1992.
- FURLONG, J. Controle do Carrapato dos Bovinos na Região Sudeste do Brasil. **Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG**, Belo Horizonte, n.8, p.49-61, 1993
- GONÇALVES, P.M.; LIMA, J.D.; PASSOS, L.M.F. Resposta humoral para *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) em bovinos submetidos ao processo de premunicação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.49, n.4, p.409-415, 1997
- GONÇALVES, P.M.; LIMA, J.D.; PASSOS, L.M.F. Detection of IgM antibodies against *Babesia bovis* in cattle. **Vet. Parasitol.** v.82, n.1, p. 11-17, 1999.
- GONZALES, L.; ARREGUI, L.A.; LARANJA, R.J. Alguns aspectos da resistência do *B. microplus* (Canestrini, 1888) aos carrapaticidas organofosforados no Rio Grande do Sul (Brasil). **Bol. Inst. Pesq. Vet. "Desidério Finamor"**, Porto Alegre, v.2, p.15-24, 1975.
- GOUGH, J.M.; KEMP, D.H. Localization of a low abundance membrane protein (Bm 86) on the gut cells of the cattle tick *Boophilus microplus* by immunogold labeling. **J. Parasitol.** v.79, n.6, p.900-907, 1993
- GUGLIELMONE, A.A. Epidemiology of Babesiosis and Anaplasmosis in South and Central America. **Vet. Parasitol.** v.57, n.3, p.109-119. 1995.
- HASSAN, S. M.; DIPEAOLU, O.; AMOO, A.O.; ODHIAMBO, T. R. Predation on livestock by chickens. **Vet. Parasitol.** v.38, n.2-3, p.199-204. 1991.
- HERNÁNDEZ, C.A.M.; MASSARD, C.L.; SOARES, C.O.; FONSECA, A.H. Resposta Imune De Bovinos Vacinados Com O Antígeno Recombinante Bm 86*. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.20, n.5, p.187-189, 1998a.

- HERNÁNDEZ, C.A.M.; MASSARD, C.L.; SOARES, C.O.; FONSECA, A.H.; COSTA, F.A. Avaliação Da Infestação De Carrapatos A Campo Em Bovinos Vacinados Com o Imunógeno Recombinante Bm 86*. **Rev. Bras. Med. Vet.** v.20, n.4, p.165-168. 1998b.
- HEWETSON, R.W. & NOLAN, J. Resistance of cattle to cattle tick *Boophilus microplus*. **Aust. J. Agric. Res.** v.19, n.2, p.323-333. 1967.
- HILDEBRANT, P.K. The Organ and Vascular Pathology of Babesiosis. In: Ristic, M. & Krier, P. J., **Babesiosis** Acad. Press, New York, p.489-493, 1981.
- HORN, S.C. & ARTECHE, C.C.P. Situação parasitária da Pecuária Brasileira. **Rev. Hora Vet.** v.14, n.23, p.12-32. 1985.
- HONER, M.R. Epidemiologia da Tristeza Parasitária Bovina. In: II Curso de parasitologia animal. 1988 Bagé, **Anais...Bagé**: 1988. p. 282
- HUNGERFORD, J.; PULGA, M.; ZWTSCH, E. Efficacy of TickGard in Brazil. In: Seminário Internacional de Parasitologia Animal, 1995, Acapulco. **Proceedings...** Acapulco. 1995, p.139.
- IICA. TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE BABESIOSIS E ANAPLASMOSIS BOVINAS. San José, Costa Rica, 1987. 79p.
- JACKSON, L.A. & OPDEBEECK, J.P. The effect of antigen concentration and vaccine regimen on the immunity induced by membrane antigens from the midgut of *Boophilus microplus*. **Immunol.** v.68, n.2, p.272-276. 1989.
- JAMES, M.A.; KUTTLER, K.L.; LEVY, M.G.; RISTIC, M. Antibody kinetics in response to vaccination against *Babesia bovis*. **Am. J. Vet. Res.**, v.42, n.11, p.1999-2001, 1981.
- JOHNSTON, L.A.Y.; KEMP, D.H.; PEARSON, R.D. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: effects of induced immunity on tick populations. **Int. J. Parasitol.** v.16, n.1, p.27-34. 1986.
- KELLY, J.C.O. & SPIERS, W.G. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in genetically different types of calves in early life. **J. Parasitol.** v.62, n.2, p.312-317. 1976
- KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M. Tristeza Parasitária dos Bovinos (TPB): Conceito, Etiologia, Transmissão, Epidemiologia, Diagnóstico e Controle. In: **Carrapato, Tristeza Parasitária e Tripanossomose dos Bovinos**, Embrapa, Campo Grande. MS, p.47-67. 1998.
- KIMARO, E.E. & OPDEBEECK, J.P. Tick infestations on cattle vaccinated with extracts from the eggs and the gut of *Boophilus microplus*. **Vet. Parasitol.** v.52, n.1-2, p.61-70. 1994.
- LABARTHE, N.V. Biological control of tick populations: review and reflections. **Cad. Saúd. Públ.** v.10, n.1, p.47-52, 1994.
- LABARTA, V.; RODRÍGUEZ, M.; PENICHER, M.; LLEONART, R. Simulation of control strategies for the cattle tick *Boophilus microplus* employing vaccination with a recombinant Bm 86 antigen preparation. **Vet. Parasitol.** v.63, n.1-2, p.131-160. 1996.
- LABRUNA, M. B.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R. Vacinas contra carrapatos. **Cad. Tec. Esc. Vet. UFMG.** n.27, p.27-42. 1999.
- LEITE, R. C. Aspectos Epidemiológicos da Coccidiose e Condições Sanitárias da Criação de Bezerros até um Ano de Idade. Sete Lagoas, MG, 1982. Belo Horizonte, Escola de Veterinária, 1982, 84 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), 1982,
- LEITE, R.C. Epidemiologia e controle químico do *Boophilus microplus*. Informações Técnicas, p.34, 1993.

- LEITE, R.C.; MUNIZ, R.A.; OLIVEIRA, P.O.; CONÇALVES, L.C.B.; REW, R. Eficácia de Doramectin contra infestações naturais de *B. microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em bovinos. **Rev. Bras. Parasit. Vet.**, v.4, n.1, p.53-56, 1995.
- LEMOS, A.M.; TEODORO, R.L.; OLIVEIRA, G.P.; MADALENA, F.E. Comparative performance of six holsteins-friesian: guzerá grades in Brasil. Burdens of *Boophilus microplus* under field conditions. **Anim. Prod.** v.41, n.2, p.187-191. 1985.
- LEMOS, A.M.A. A resistência genética dos bovinos e o controle do carrapato. Documento **Embrapa/CNPGL**. Coronel Pacheco. v.6, 24 p. 1986.
- LINHARES, G.F.C.; MASSARD, C.L.; ARAUJO, J.L.B.; ALVES, L.C. Levantamento sorológico para *Babesia bovis* (Babes, 1888) em bovinos na região Centro-Oeste do Brasil. **Arq. Univers. Fed. Rural RJ**. v.15, n.1, p.85-91. 1992.
- LOPEZ, G. Necessidades futuras en investigación sobre garrapatas en Colombia. **Rev. Vet. Venezolana**, v.42, p.95-105, 1977.
- MACHADO, R.Z. Estudo da imunidade celular e humoral na babesiose bovina. Jaboticabal: Universidade Estadual de São Paulo, 1991. 150p. Dissertação (Livro Docência), 1991.
- MADRUGA, C.R.; AYCARDI, E.; PUTT, N. Epidemiologia da Anaplasmosse e Babesiose em Bovina da Região de Cerrado do Estado de Mato Grosso do Sul : I Prevalência. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v.53, n.5, p.631-640. 1983
- MAGALHÃES, F.E.P. Aspectos biológicos, ecológicos e de controle do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) no município de Pedro Leopoldo - MG. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1989. 115p. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária) 1989.
- MAGALHÃES, F.E.P. & LIMA, J.D. Controle estratégico do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) em bovinos na região de Pedro Leopoldo. Minas Gerais-Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** V.43, n.5, p.423-431. 1991.
- MAHONEY, D.F. & ROSS, D.R. Epizootological factors in the control of Bovine Babesiosis. **Aust. Vet. J.** v.48, n.5, p.292-298. 1972.
- MAHONEY, D.F. & MIRRE, G.B. A note on the transmission of *Babesia bovis* (syn *B. argentina*) BY THE ONE-HOST-TICK, *Boophilus microplus*. **Res.Vet. Sci.** v.26, n.2, p.253-254. 1979.
- MAHONEY, D.F.; WRIGHT, I.G.; GOODGER, B.V.; MIRRE, G.B.; SUTHERST, R.W. The transmission of *Babesia bovis* in herds of european and zebu x european cattle infested with the tick *Boophilus microplus*. **Aust. Vet. J.** v.57, n.10, p.461-468, 1981.
- MARQUES, A.O.; ARANTES, G.J.; SILVA, C.R. Avaliação da eficácia da ivermectina a 1% (solução injetável), no tratamento de bovinos naturalmente infestados pelo carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) e mantidos em pastagens. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.4, n.2, p.117-119, 1995.
- MASSARD, C.L.; RAMOS, N.F.; FONSECA, A.H.; HERNÁNDEZ, C. M.; RODRÍGUEZ, M.; FUENTE, J. Effect of vaccination with Gavac TM on the reduction in the number and frequency of acaricide treatments in cattle under production conditions in Brazil. In: **Recombinant Vaccines for the Control of Cattle Tick**. José de la Fuente, 241p. 1995
- MATTHEWSON, M.D. The future of tick control: a review of chemical and non-chemical options. **Prev. Vet. Med.** v.2, n.1-4, p.559-568. 1984.
- McCOSKER, P.J. The global importance of babesiosis. In: Ristic, M.; Krier, P. J. **Babesiosis**. Academic Press, New York. p.1-24, 1989.

- MONTENEGRO, S.J. Prevalence and control of Babesiosis in the Americas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.87, suplemento III, p.27-36, 1992.
- MORENO, E.C. **Incidência de Ixodídeos em Bovinos de Leite e Prevalência em Animais Domésticos da Região Metalúrgica de MG.** Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1984. 105p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia).
- MURPHY, F.A.; OSEBOLD, J.W.; AALUND, O. Kinetics of the antibody response to *Anaplasma marginale* infection. *J. Infect. Dis.* v.116, n.1, p.99-106, 1966.
- NEWTON, L.G. Acaricide resistance and cattle tick control. *Aust. Vet. J.* v.43, n.9, p.389-394. 1967.
- NOLAN, J. Mechanisms of resistance to chemicals in arthropod parasites of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* v.18, n.2, p.155-166. 1985.
- NOLAN, J.; WILSON, J.T.; GREEN, P.E.; BIRD, P.E. Synthetic pyrethroid resistance in field samples in cattle tick (*Boophilus microplus*). *Aust. Vet. J.* v.66, n.6, p.179-182. 1989.
- NUNES, J.L.; COBENNS, M.E.M.; MOLTEDO, H.L. "*Boophilus microplus*", la garrapata comum del Ganado Vacum., *Rev. Hemisfério Sur*, n.120, p.184-187 1982.
- O'DONOGHUE, P.J.; FRIEDHOFF, K.T.; VIZCAINO, O.G.; WEYRETER, H. The detection of IgM and IgG antibody against *Babesia bigemina* in bovine sera using semi-defined antigens in enzyme immunoassays. *Vet. Parasitol.* v.18, n.1, p.1-12, 1985.
- OLIVEIRA, P.R. **Controle Estratégico do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) Em Bovinos De Propriedades Rurais Dos Municípios De Lavras e Entre Rios de Minas-MG.** Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1993. 97p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária).
- OPDEBBECK, J.P.; WANG, J.Y.M.; JACKSON, L.A.; DOBSON, C. Vaccins to protect Hereford cattle against the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Immunology*, v.63, n.10, p.363-367. 1988.
- PASSOS, L.M.F. & LIMA, J.D. Diagnóstico de anaplasmoze congenita em Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* v.36, n.6, p.743. 1984.
- PASSOS, L.M.F.; SCIAVICCO, C.J.S.; SAMPAIO, L.B.M.; LIMA, W.S. Estudo Epidemiológico da Babesiose Bovina em Minas Gerais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* v.6, n.2, supl. 1, p.311, 1997.
- PATARROYO, J.H. & COSTA, J.D. Susceptibility of Brazilian samples of *Boophilus microplus* to organophosphorus acaricides. *Trop. Anim. Health Prod.* v.12, n.1, p.6-10. 1980.
- PATARROYO, J.H. & VARGAS, M.J. Fatores de resistência dos carrapatos aos carrapaticidas. Viçosa, MG: UFV. 1982. 9p.
- PATARROYO, J.H.S.; RIBEIRO, M.F.B.; SANTOS, J.L.; FARIAS, J.E. Epidemiologia da Babesiose Bovina no Estado de MG. I Prevalência de Anticorpos Fluorescentes na Zona da Mata. MG. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.39, n.3, p.423-429. 1987.
- PEREIRA, M.C. *Boophilus microplus* - Revisão taxionômica e morfo-biológica. Químio, 105 p. 1982.
- PITOMBO, L.H. Carrapatos: erradicar ou controlar? Eis a questão. *Balde Branco*, n.280, p.19-22. 1988.
- RAND, K.N.; MOORE, T.; RAND, K.N.; MOORE, T.; SRISKANTHA, A. Cloning and expression of a protective antigen from the cattle tick *Boophilus microplus*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* v.86, p.9657-9661. 1989.

- RIBEIRO, M.F.B.; PATARROYO, J.H.S.; SANTOS, J.L.; FARIA, J.E. Epidemiologia da Anaplasmosse Bovina no Estado de MG. I Prevalência de Anticorpos Aglutinantes e Fluorescentes na Zona da Mata. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v.36, n.4, p.425-432. 1984.
- RIBEIRO, M.F.B. Estudo ao microscópio óptico e eletrônico da morfologia e evolução do *Anaplasma marginale* em teleógenas de *Boophilus microplus*, Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. 1991. 113p. Tese (Doutorado em Parasitologia).
- RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D.; GUIMARÃES, A.M. Transmissão congênita da anaplasmosse bovina. **Arq. Bras. de Med. Vet. Zoot.** v.47, n.3, p.297-304. 1995.
- RIBEIRO, M.F.B. & LIMA, J.D. Morphology and development of *Anaplasma marginale* in mid gut of engorged female ticks of *Boophilus microplus*. **Vet. Parasitol.** v.61, n.3, p.31-39. 1996.
- RISTIC, M. **Babesiosis of Domestic Animals and Man.** CRC Press, Illinois, 1988, 255p.
- ROCHA, U.F. Biologia e controle biológico do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini). **Boletim Técnico.** UNESP, Jaboticabal, SP, 32 p. 1984.
- RODRÍGUES, M.; PENICHET, M.L.; MOURIS, A.E.; LABORTA, V.; LORENZA, L. Control of *Boophilus microplus* populations in grazing cattle vaccinated with a recombinant Bm 86 antigen preparation. **Vet. Parasitol.** v.57, n.2, p.339-349. 1995.
- SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal.** Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa Animal em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SHAW, R.D.; COOCK, M.; CARSON, R.F. Development in the resistance status of the southern cattle tick to organophosphorus and carbamate insecticides. **J. Econ. Entomol.** v.61, p.1590-1594. 1968.
- SILVA, R.C.; ROCHA, U.F.; MARQUES, A.O. Estudo sazonal, ao longo de um ano solar, da dinâmica populacional dos estágios parasitários de *Boophilus microplus* na pele de hospedeiros *Bos indicus* da estação experimental da empresa de pesquisa agropecuária de MG (EPAMIG), em Uberaba, MG, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.6, n.2, supl. 1, p.128, 1997.
- SIMMONDS, F.J. Biological control of pests of veterinary importance. **Vet. Bull.** v.2, p.71-85. 1967.
- SMITH, D.R.J.; HUNGERFORD, J.; WILLADSEN, P. The development of TickGard - a commercial vaccine against the cattle tick *Boophilus microplus*. Indooroopilly: Biotec Australia-CSIRO, 17 p., 1994.
- SNOWBALL, G.J. Ecological observations on the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Aust. J. Agric. Res.** v.8, p.394-413, 1957.
- STENDEL, W. The relevance of different test methods for the evaluation of tick controlling substances. **J. S. African Vet. Assoc.** v.51, n.3, p.147-152. 1980.
- SUTHERST, R.W.; JONES, R.J.; SCHNITZERLING, H.J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle tick. **Nature.** v.295, p.320-321. 1982.
- TELLAM, R.L.; SMITH, D.; KEMP, D.H. Vaccination against ticks. In: YONG, W. K. (ed) **Animal parasite control utilizing biotechnology.** Boca Raton: CRC Press, p.303-331, 1992.
- TUCUMAN. Natural infections with *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in Hereford, Criolla and Nellore cattle in Tucumán, Argentina. **Rev. Med. Vet.** v.71, n.2, p.55-60, 1990.
- URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Vet. Parasitol.** Logman, London, 1990, 306 p.

- VERÍSSIMO, C.J. **Resistência e Suscetibilidade de Bovinos Leiteiros Mestiços ao carrapato *Boophilus microplus***. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP, 1991. 170p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária).
- VIDOTTO, O.; VITODDO, M.C.; YAMAMURA, M.H.; ANDRADE, G.M. Detecção de *Anaplasma marginale* em diferentes estágios evolutivos do *Boophilus microplus*, utilizando a técnica de PCR. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.6, n.2, suplemento 1, 1997.
- WANDURAGALA, L. & RISTIC, M. Anaplasmosis. In: Woldehiwet, Z.; Ristic, M. **Rickettsial and Chlamydial Diseases of Domestic Animals**. Oxford: Pergamon Press, 1993, p.65-83.
- WHARTON, R.H.; HARLEY, K.L.S.; WILKINSON, R.P.; UTECH, B.W.; KELLEY, B.M. A comparison of the cattle tick control by pasture spelling, planned dipping and tick resistance cattle. **Aust. J. Agric. Res.** v.20, n.5, p.783-793. 1969.
- WHARTON, R.H.; UTECH, K.B.W. The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of the tick numbers on cattle. **J. Aust. Entomol. Soc.**, n.9, p.171-182, 1970.
- WHARTON, R.H. The current status and prospects for the control of ixodes ticks with special emphasis on *Boophilus microplus*. **Bull. Off. Int. Epiz.** v.81, n.1-2, p.65-85. 1974.
- WHARTON, R.H. Resistent cattle for tick control. **Santa Gertrudes Annual.** p.53-54. 1976.
- WIKEL, S.K. The induction of host resistance to tick infestation with salivary gland antigen. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v.30, p.284-288, 1981.
- WIKEL, S. Immunological control of hematophagous arthropod vector: utilization of novel antigens. **Vet. Parasitol.** v.29, n.2-3, p.235-264. 1988.
- WIKEL, S.K. & BERGMAN, D. Tick host immunology: significant advances and challenging opportunities. **Parasitol. Today**, v.13, p.383-389, 1997.
- WILLADSEN P. & KEMP, D.H. Vaccination with 'Concealed' antigens for tick control. **Parasitol. Today.** v.4, p.196-198, 1988.
- WILLADSEN, P.; RIDING, G.A.; MCKENNA, R.V. Immunological Control of a Parasitic Arthropod. **J. Immun.** v.143, n.4, p.1346-1351. 1989
- WILLADSEN, P.; KEMP, D.H.; COBON, G.; WRIGHT, I.G. Successful vaccination against *Boophilus microplus* and *Babesia bovis* using recombinant antigens. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v.87, supl. III, p.289-294, 1992.
- WILLADSEN, P.; BIRD, P.; COBON, G.S.; HUNGERFORD, J. Commercialisation of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. **Parasitol.** v.110, supl., p.S43-S50, 1995
- WILLADSEN, P. Novel vaccines for ectoparasites. **Vet. Parasitol.** v.71, n.7, p.209-222. 1997.
- WRIGHT, J.E. Avermectins: new pesticides? **The Southwestern Entomol.** v.7, p.51. 1985.
- WRIGTH, F.C. & AHRENS, E.H. Effect of Selection Pressure on the Cholinesterase of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) Resistant to Coumaphos. **J. Econ. Entomol.** v.82, n.2, p.524-529. 1989.
- WONG, J.Y.M.; OPDEBEECK, J.P. Larval membrane antigens protect Hereford cattle against infestation with *Boophilus microplus*. **Parasitol. Immunol.** v.12, n.1, p.75-83, 1990.