

T636.089 69

M528 i

1999

**Valeska Shelda Pessoa de Melo**

**INFECCÃO NATURAL POR *Anaplasma marginale* EM BEZERRAS DE FAZENDAS  
LEITEIRAS DA REGIÃO METALÚGICA, MINAS GERAIS**

**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.  
Orientadora: Prof. Lygia Maria Friche Passos.**

**Belo Horizonte  
Escola de Veterinária da UFMG  
1999**

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

16/09/99

1279899-01

2246.010.0

M528i Melo, Valeska Shelda Pessoa de. 1971-

1999 Infecção natural por *Anaplasma marginale* em bezerras de fazendas leiteiras da região Metalúrgica, Minas Gerais / Valeska Shelda Pessoa de Melo. - Belo Horizonte: UFMG-Escola de Veterinária, 1999.

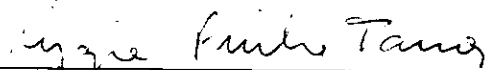
30 p.: il.

Dissertação (mestrado) - UFMG-Escola de Veterinária

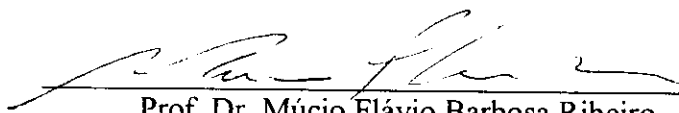
1. Anaplasmosose - Teses. 2. Anaplasmosose - Aspectos imunológicos - Teses. 3. Bezerro - Doenças - Aspectos imunológicos - Teses. 4. Imunofluorescência - Teses. I. Título.

CDD - 636.089 69

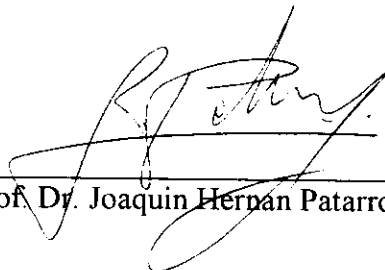
Dissertação defendida e aprovada em 11 de Junho de 1999, pela Comissão de examinadora constituída por:



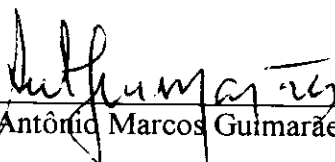
Prof.<sup>ma</sup> Dra. Lygia Maria Friche Passos  
Orientadora



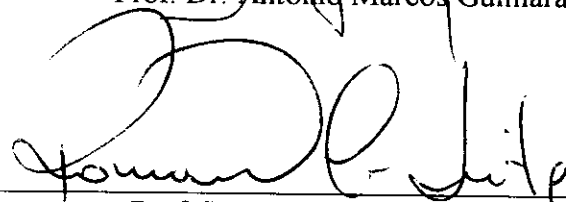
Prof. Dr. Múcio Flávio Barbosa Ribeiro



Prof. Dr. Joaquin Hernan Patarroyo Salcedo



Prof. Dr. Antônio Marcos Guimarães



Prof. Dr. Romário Cerqueira Leite

À minha mãe Nancy, pela vida, pelo exemplo, pelo bem inestimável que é possuir uma família.  
Com amor dedico.

---

### AGRADECIMENTOS

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

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

Aos Profs. Antônio Marcos Guimarães, Joaquin Hernan Patarroyo Salcedo, Romário Cerqueira Leite pelas críticas, correções, sugestões e pelo enriquecimento dado ao trabalho.

Ao Prof. Helton Mattana Saturnino, por ter concedido às instalações, equipamentos e os animais, sem os quais se tornaria impossível a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da EV/UFMG e à Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia – Coordenação Preventiva, pelo auxílio concedido para disponibilidade semanal de veículos para as visitas às fazendas.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos durante o período de realização do Curso de Mestrado.

Ao Setor de Serviços Gerais da EV/UFMG, pelo atendimento amigável e ajuda nas visitas às fazendas.

Aos amigos Márcia, Kelly, Fabiene, Ana Paula e Claudemir, que muito me ajudaram na coleta do material e no processamento das amostras, pelo carinho, apoio e amizade.

À Prof.a. Celina Maria Modena pela amizade, por toda a sua dedicação, empenho e estímulos constantes para realização do Aperfeiçoamento, que foi de fundamental importância para a minha formação na área de pesquisa.

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

Toda a minha gratidão e carinho à amiga Nádia, por toda a sua ajuda, paciência e dedicação no Centro de Computação durante o curso de Mestrado, além do carinho, amizade, companheirismo e inesquecíveis momentos de alegria.

À D. Sônia Rita do Nascimento por todo o carinho maternal, amizade e dedicação nos momentos de alegrias, dificuldade e tristeza, o meu sincero e eterno agradecimento.

Aos amigos, funcionários da Escola de Veterinária da UFMG, Cida Almada, Prof. Francisco Lobato, Prof. Nelson Rodrigo, Nelson Éder, Antônio Benjamim de Paula, Ricardo Canesso, André, Júnia Pacheco, Jorge Bueno, Luciana, Renata, Danilo e Joãozinho, por todo apoio, amizade e carinho.

Aos meus colegas de turma de Mestrado e Doutorado, Cecília, Núncio, Ricardo, Márcio, Heleno, Alice, Rizaldo, Salete e Efigênia, pela constante presença e auxílio no decorrer das disciplinas, agradeço toda a amizade, carinho e companheirismo nos momentos de dificuldades, como também em todas as ocasiões de alegria que juntos compartilhamos no decorrer dessa jornada.

Ao amigo Rizaldo Pinheiro pela amizade e ajuda na confecção dos slides para minha defesa.

Às amigas Joely Figueiredo, Rita de Cássia Lanes Ribeiro, Maria José de Oliveira, Juliana Rocha e Sandra Salmite pela paciência, compreensão, ensinamentos, amizade e carinho durante estes anos de convivência.

À todos os meus amigos de Pós-graduação pela amizade, companheirismo e momentos inesquecíveis de alegrias.

À minha irmã Micheline pelo amor e amizade que nos une.

À Domingues Fontenele pela dedicação, compreensão, apoio constante e incondicional, e companheirismo nos momentos de alegrias e dificuldades.

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

---

*"De tudo ficaram três coisas: a certeza de que estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sonho uma ponte, da procura um encontro" (Fernando Sabino).*

---

## SUMÁRIO

---

	<b>RESUMO</b> .....	9
	<b>ABSTRACT</b> .....	9
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURA CONSULTADA</b> .....	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>14</b>
3.1	LOCAL E PERÍODO.....	14
3.2	ANIMAIS.....	15
3.2.1	FAZENDA HMS.....	15
3.2.2	FAZENDA BARREIRO ALTO.....	15
3.3	EXAMES REALIZADOS.....	15
3.3.1	DETERMINAÇÃO DA PARASITEMIA (%).....	15
3.3.2	DETERMINAÇÃO DO VOLUME GLOBULAR (%).....	15
3.3.3	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI).....	15
3.3.3.1	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	15
3.3.3.2	PREPARO DO ANTÍGENO PARA IFI.....	16
3.3.3.3	IFI.....	16
3.4	ESTATÍSTICA.....	16
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>16</b>
4.1	CONDIÇÕES CLIMÁTICAS.....	16
4.2	FAZENDA HMS.....	17
4.2.1	PRIMO-INFECCÃO.....	17
4.2.2	PARASITEMIA.....	17
4.2.3	VOLUME GLOBULAR.....	17
4.2.4	SOROLOGIA.....	17
4.3	FAZENDA BARREIRO ALTO.....	18
4.3.1	PRIMO-INFECCÃO.....	18
4.3.2	PARASITEMIA.....	18
4.3.3	VOLUME GLOBULAR.....	18
4.3.4	SOROLOGIA.....	18
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>24</b>
5.1	TRANSMISSÃO E PRIMO-INFECCÃO.....	24
5.2	PARASITEMIA.....	25
5.3	VOLUME GLOBULAR.....	25
5.4	SOROLOGIA.....	25
5.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	25
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>26</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>26</b>

---

### LISTA DE FIGURAS

---

FIGURA 1	Temperatura e precipitação pluvial na Região Metalúrgica, MG, no período de 1994 a 1998.....	19
FIGURA 2	Idade da primo-infecção por <i>A. marginale</i> em bezerras, nascidas no período de março a julho, nas fazendas HMS e Barreiro Alto, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	19
FIGURA 3	Primo-infecção por <i>A. marginale</i> em bezerros, nascidas de março a junho, na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	20

FIGURA 4	Idade da primo-infecção por <i>A. marginale</i> em bezerras, nascidas no período de setembro a dezembro, na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	20
FIGURA 5	Primo-infecção por <i>A. marginale</i> em bezerras, nascidas de setembro a dezembro, na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	21
FIGURA 6	Parasitemia média de <i>A. marginale</i> , em bezerras nascidas no período de março a junho (grupo 1) e no período de setembro a dezembro (grupo 2), na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	21
FIGURA 7	Frequência de anticorpos anti- <i>A. marginale</i> (IFI), em bezerras nascidas no período de março a junho, na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	22
FIGURA 8	Primo-infecção por <i>A. marginale</i> em bezerras, nascidas no período de março a julho, na fazenda Barreiro Alto, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	22
FIGURA 9	Parasitemia média de <i>A. marginale</i> , em bezerras nascidas no período de março a julho, na fazenda Barreiro Alto, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	23
FIGURA 10	Frequência de anticorpos anti- <i>A. marginale</i> (IFI), em bezerras nascidas no período de março a julho, na fazenda Barreiro Alto, Região Metalúrgica, MG, 1997.....	23

## RESUMO

Realizou-se um estudo da dinâmica de infecções naturais por *Anaplasma marginale*, durante o período de um ano, em duas propriedades localizadas na Região Metalúrgica do estado de Minas Gerais. Foram realizados esfregaços sangüíneos, sorologia através da reação Imunofluorescência Indireta (IFI) e determinado o volume globular (VG). Os animais que nasceram no período de março a julho sofreram a infecção em outubro e novembro, independente da idade do animal; enquanto, os que nasceram no período de setembro a dezembro adquiriram a infecção nos primeiros dias de vida, com parasitemia patente a partir de 30 dias de idade. Durante o período patente o VG reduziu na primeira semana de infecção, variando entre 20 a 23%. Das 56 bezerras acompanhadas, 55% foram positivas à IFI. A prevalência máxima de bezerras com anticorpos anti-*A. marginale* ocorreu em animais acima de 150 dias de idade, correspondendo ao período logo após o pico da parasitemia. Concluiu-se que a ocorrência da primo-infecção sofre influência das estações do ano e que os animais nascidos na estação seca apresentam maior risco de infecção, quando expostos às condições de elevada transmissão durante a estação chuvosa subsequente.

Palavras-chave: *Anaplasma marginale*, anaplasmose, bovinos, epidemiologia, Imunofluorescência Indireta.

## ABSTRACT

The dynamic of *Anaplasma marginale* natural infections in calves was evaluated during a period of one year in two farms located in the "Metalúrgica" Region of the Minas Gerais State, Brazil. Blood samples were collected weekly for determination of parasitemia, packed cell volume (PCV) and serology by the Indirect Antibody Fluorescent Test (IFAT). The animals which were born from March to July suffered the infection in October and November, independently of their age, while calves which were born from September to December acquired the infection during the first days of life, presenting patent parasitemia from 30 days of life. During the patent period, the PCV decreased after one week of infection, varying from 20 and 23%. Amongst the 56 calves studied 55 % were positive by IFAT. The maximum titles of antibodies were detected in calves older than 150 days, which corresponded to the period soon after the maximum parasitemia. It was concluded that, in the studied region, transmission of *A. marginale* is influenced by climatic conditions and that calves born during the dry season are more likely to acquire the infection when they are exposed to high transmission levels during the subsequent raining season.

Key words: *Anaplasma marginale*, anaplasmosis, cattle, epidemiology, Indirect Fluorescent Antibody Test.

## 1 INTRODUÇÃO

A anaplasmosose é uma doença de ruminantes caracterizada por anemia progressiva (Ristic, 1968). A principal espécie que se destaca como causa desta doença nos bovinos é o *Anaplasma marginale*, Theiler 1910.

Esta hemoparasitose é endêmica nas regiões tropicais e subtropicais, constituindo-se um fator limitante ao desenvolvimento da pecuária, devido à mortalidade, redução na produção de carne e leite e custo de medicamentos (McDowell et al., 1964; James et al., 1985; Lima, 1991).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado variações na soroprevalência da anaplasmosose, alguns revelando áreas de estabilidade enzoótica (Payne & Osorio, 1990), enquanto outros indicam situação de instabilidade em outras áreas (Madruga et al., 1983; Ribeiro et al., 1984). Nas áreas de instabilidade, onde os níveis de infestação dos vetores são baixos para a transmissão do agente, há ocorrência de manifestações clínicas da anaplasmosose ocasionando altas taxas de mortalidade (Madruga et al., 1983). Nas áreas de estabilidade, devido à proteção adquirida nos primeiros meses de vida, apenas casos clínicos esporádicos são observados (Payne & Osorio, 1990).

Atualmente as áreas de instabilidade tendem à aumentar em função de práticas que interferem nos determinantes epidemiológicos da anaplasmosose. A utilização exagerada de carrapaticidas e inseticidas em áreas de estabilidade tem reduzido os níveis de infestação dos vetores transmissores e, conseqüentemente, grande parte da população de bezerros não adquire a infecção. A adoção de novas práticas de manejo visando aumento de produtividade dos rebanhos, tais como, o aleitamento artificial de bezerros, uso de bezerreiros individuais, sistema "free stall", dentre outros, também reduz o contato dos animais com os vetores favorecendo o aparecimento de áreas de instabilidade (Madruga et al., 1983; Ribeiro et al., 1984).

A susceptibilidade dos animais aumenta com a idade, sendo que os jovens apresentam alterações clínicas e hematológicas menos severas (Roby et al., 1961). Este fato é atribuído a determinados

fatores, tais como: a persistência de anticorpos colostrais (Corrier & Guzman, 1977), a imunidade celular (Buening, 1973), a maior atividade eritropoiética da medula óssea (Ristic, 1968) e a função protetora da hemoglobina fetal (Anderson et al., 1972).

Em áreas endêmicas, os bezerros se infectam nos primeiros meses após o nascimento (Ribeiro, 1979). A primo-infecção ocorre em bezerros de um a quatro meses de idade, provavelmente, devido à queda nos níveis de anticorpos colostrais entre o 28° ao 84° dia após o nascimento (Madruga et al., 1984).

Apesar da prevalência de anticorpos contra *A. marginale* no estado de Minas Gerais ser elevada, ocorre a anaplasmosose clínica com situações de instabilidade. Embora a importância do *A. marginale* seja reconhecida, os dados epidemiológicos existentes têm sido determinados em trabalhos isolados, não podendo ser extrapolados para todo o Estado, devido não só à existência de condições ecológicas diferentes, como também ao sistema de criação adotado em todas as regiões (Ribeiro & Reis, 1981a; Ribeiro & Reis, 1981b; Ribeiro et al., 1984).

O presente trabalho teve como objetivo estudar a dinâmica de infecções naturais por *A. marginale*, durante o período de um ano na região Metalúrgica, estado de Minas Gerais, buscando compreender a epidemiologia dessa doença e, possivelmente, fornecer subsídios para a formulação de estratégias de controle mais eficientes para a região estudada.

## 2 LITERATURA CONSULTADA

A anaplasmosose é uma doença causada por uma rickettsia intraeritrocítica obrigatória, do gênero *Anaplasma*, que pertence a família Anaplasmataceae e ordem Rickettsiales (Ristic, 1968).

O termo *Anaplasma* foi sugerido em razão do agente à microscopia de luz, aparentar desprovido de citoplasma, enquanto o termo *marginale* indica a sua localização periférica dentro do eritrócito. Os corpos marginais de *Anaplasma* medem entre 0,3 a 1,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro e são constituídos por uma membrana externa simples que limita uma a oito

subunidades, denominadas de corpúsculos iniciais. Cada corpúsculo inicial corresponde a uma unidade infectante do *Anaplasma* (Ristic, 1968)

O *Anaplasma* infecta eritrócitos de bovinos, bubalinos, ovinos e caprinos, além de uma variedade de ruminantes silvestres, e pode ser transmitido por vetores artrópodes, tais como: os carrapatos, possíveis vetores biológicos, e as moscas hematófagas (*Tabanidae* e *Stomoxys*) e os mosquitos (*Psorophora*), vetores mecânicos (Wanduragala & Ristic, 1993). O *Boophilus microplus* é a espécie de carrapato mais citada na literatura como vetor do *Anaplasma* (Losos, 1986). Entretanto, para ser considerado como tal há necessidade de ter transmissão transovariana dessa rickettsia. A demonstração da transmissão transovariana tem falhado constantemente, não sendo considerada, portanto como o método de transmissão que ocorre com frequência na natureza (Ribeiro & Lima, 1995a; Ribeiro et al., 1996). Aguirre et al. (1994) observaram que a transmissão deste carrapato depende do nível de rickettsemia do animal.

Bennett (1974) demonstrou que várias larvas e ninfas desse carrapato, que desprendem dos animais durante o período do repasto sanguíneo, são viáveis, e sugere que possam se fixar em outros hospedeiros, transmitindo a doença. Esses dados sugerem que, no campo, a transmissão transestadial assume real importância, podendo os bezerros se infectar com *B. microplus* oriundos da própria mãe, durante a amamentação.

A maioria dos conhecimentos ecológicos do *B. microplus* são devido aos estudos australianos. Magalhães (1989) e Batista (1998) fazendo estudos programados sobre o ciclo de vida do *B. microplus* e insetos hematófagos, respectivamente, na Região Metalúrgica, estado de Minas Gerais, observaram a ocorrência sazonal destes vetores transmissores e seus aspectos biológicos e ecológicos.

Além dos vetores, a anaplasmosose pode ser transmitida de forma iatrogênica (Guglielmone et al., 1997) e por via transplacentária (Zaugg & Kuttler, 1984).

A doença foi primeiramente descrita por Theiler em 1910, e caracteriza-se por anemia severa

associada ao parasitismo intraeritrocitário, queda progressiva do volume globular, icterícia acompanhada por febre, apatia e inapetência. É uma enfermidade de difícil diagnóstico clínico, devido aos sinais clínicos serem comuns a diversos processos patológicos (Ristic, 1968; Losos, 1986). A anemia observada em animais com anaplasmosose é provocada pela fagocitose de eritrócitos aparentemente não infectados, além dos infectados, devido a uma resposta auto-imune causada pela alteração da membrana eritrocitária pelo *Anaplasma*. Portanto, a intensidade da anemia não está associada à parasitemia, mas ao mecanismo auto-imune (Ristic, 1968; Losos, 1986)

A susceptibilidade dos animais aumenta com a idade, sendo que os jovens apresentam quadros menos severos. A intensidade e a gravidade da infecção estão relacionadas diretamente com a idade do animal (Roby et al., 1961; Ristic, 1968; Alonso et al., 1992; Wanduragala & Ristic, 1993; Guglielmone, 1995). Segundo Jones et al. (1968), a intensidade da anemia, a parasitemia e sua duração estão diretamente relacionadas com a idade do hospedeiro. Os mesmos autores afirmam que os animais jovens apresentam menor decréscimo do volume globular, menor parasitemia, quando comparados com animais adultos.

A infecção geralmente é moderada em bezerros com idade inferior a um ano de vida; é considerada aguda, mas raramente fatal em animais de até dois anos de idade; é aguda e ocasionalmente fatal em animais de até três anos; e superaguda e frequentemente fatal em animais com idade acima de três anos de vida (Ristic, 1968).

Os animais que se recuperam da anaplasmosose permanecem portadores, atuando como reservatórios. Estes animais apresentam baixa parasitemia, podendo, entretanto, transmitir a doença para outros bovinos susceptíveis por meio de vetores mecânicos e/ou biológicos (Schilf, 1971)

A anaplasmosose apresenta uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo endemicamente em regiões tropicais e subtropicais, sendo responsável por alta mortalidade e grandes perdas na produção de carne e leite (McDowell et al., 1964; James et al., 1985; Lima, 1991).

A anaplasmosose em Minas Gerais é considerada endêmica e os animais geralmente adquirem a infecção quando jovens apresentando parasitemia moderada e decréscimo significativo do volume globular (Ribeiro & Reis, 1981a). Segundo Ribeiro et al. (1984), a transmissão da anaplasmosose em Minas Gerais não é constante durante o ano, causando instabilidade em zonas endêmicas.

Normalmente, nas áreas endêmicas ocorre alta percentagem de animais adultos com anticorpos contra *A. marginale* (Kuttler et al., 1970; Corrier & Guzman, 1977) e, em consequência, quase todos os bezerros obtêm, por meio do colostro, imunidade passiva (Kuttler et al., 1962; Ribeiro, 1979). Ross & Lohr (1970) sugeriram que os anticorpos colostrais sejam um dos fatores responsáveis pela resistência natural à infecção por *A. marginale*.

Além da imunidade passiva, a maior resistência dos bezerros à anaplasmosose, ainda que não bem definida, está comumente associada a uma melhor resposta imunológica, particularmente à imunidade celular decorrente da persistência do timo (Buening, 1973), à grande atividade eritropoiética da medula óssea (Ristic et al., 1958) e a uma possível ação protetora da hemoglobina fetal (Anderson et al., 1972).

Apesar destes fatores de resistência, bovinos de todas as idades são susceptíveis à anaplasmosose (Jones et al., 1968; Losos, 1986). Surto desta doença têm sido relatados na América Latina com significativas perdas econômicas (Payne & Scott, 1982; Payne & Osorio, 1990; Guglielmo, 1995). Em nosso país, vários trabalhos apontam a anaplasmosose, isoladamente ou associada com a babesiose, como uma das principais causas de morte ou subdesenvolvimento de bezerros (Leite & Lima, 1982; Ribeiro et al., 1983; Madruga et al., 1984).

O grau de susceptibilidade ao *A. marginale* do *Bos indicus*, *Bos taurus* e cruzamentos *Bos indicus* X *Bos taurus* constitui-se um aspecto que ainda não apresenta um conceito bem definido. Alguns autores afirmam que os zebuínos são mais resistentes que os taurinos (Ristic, 1968; Callow, 1976; Uilemberg, 1976; Obi, 1978), enquanto outros pesquisadores, sob condições naturais ou experimentais, não verificaram nenhuma diferença significativa entre estas

espécies ou nos cruzamentos entre ambas (Kuttler et al., 1970; Patarroyo et al., 1978; Otim et al., 1980; Wilson et al., 1980; Madruga et al., 1984).

Madruga et al. (1985) observaram parasitemias médias menores em bezerros zebuínos e sugeriram que os cruzamentos meio-sangue tenham menor probabilidade de apresentar anaplasmosose. Bock et al. (1997) observaram que tanto o *B. taurus* como o *B. indicus* são susceptíveis a esta doença quando expostos ao *A. marginale*, à *Babesia bovis* e à *Babesia bigemina*.

A incidência e a importância econômica da anaplasmosose variam de uma região para outra, dependendo das condições climáticas e de manejo das fazendas. A introdução de bovinos altamente susceptíveis, particularmente os importados de regiões de clima temperado, a fim de melhorar a indústria local, resulta no aparecimento de várias manifestações clínicas (Aboytes-Torres et al., 1994).

Vários modelos epidemiológicos têm sido desenvolvidos para o estudo da anaplasmosose. Estes modelos constituem uma importante ferramenta para melhor compreensão desta doença, entretanto apresentam algumas desvantagens, pelo fato dos seus dados não poderem ser extrapolados para outras áreas, pois a anaplasmosose é uma doença influenciada por fatores ambientais e de manejo. O estado portador crônico e a dinâmica da população de vetores mecânicos e biológicos também aumentam estas desvantagens (Aboytes-Torres et al., 1994).

Vários ensaios sorológicos vêm sendo empregados para diagnóstico e estudos de prevalência do *A. marginale*, tais como, a aglutinação em tubo capilar (AC), a aglutinação "card test" (CT), "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) e o DOT ELISA, o radioimunoensaio (RIA) e a imunofluorescência indireta (IFI) (Knowles et al., 1982; Montenegro-James et al., 1985; Barry et al., 1986; Schuntner & Leatch, 1988; Wright, 1990; Alonso et al., 1997).

Estes testes apresentam uma elevada especificidade. O CT é considerado um ensaio rápido, porém menos específico quando

comparado com os outros testes (Amerault et al. 1981; Knowles et al., 1982). Hungerford & Smith (1997) desenvolveram um CT modificado mais sensível utilizado para estimar a prevalência da anaplasmoze bovina.

Apesar de várias modificações destas técnicas, algumas apresentam várias desvantagens relacionadas, principalmente, com a reatividade inespecífica, que interfere na interpretação dos resultados (Wright, 1990).

Antígenos purificados vêm sendo desenvolvidos a fim de substituírem os antígenos brutos, que são geralmente utilizados nos ensaios sorológicos. Os antígenos brutos são obtidos a partir do sangue de bezerros recém-nascidos, esplenectomizados e infectados experimentalmente com uma amostra isolada do agente e, por este motivo, apresentam-se contaminados por componentes celulares do hospedeiro, o que determina inespecificidade às reações sorológicas (Rodgers et al., 1998; Wright, 1990). Os antígenos purificados estão sendo empregados em alguns ensaios sorológicos, tal como na aglutinação em látex, que utiliza microesferas sensibilizadas com proteínas do agente cultivado, e que vem determinando maior sensibilidade e especificidade ao imunodiagnóstico da anaplasmoze bovina (Rodgers et al., 1998).

Os testes sorológicos mais utilizados para imunodiagnóstico da anaplasmoze bovina e para estudos de prevalência desta doença são o ELISA e a IFI (Thoen et al., 1980; Wright, 1990; Alonso et al., 1992; Nielsen et al., 1996).

O ELISA é considerado um teste sensível e de alta especificidade. Os resultados dos soros testes precisam ser avaliados por meio de espectrofotometria, o que exige o uso de um leitor automatizado (Duzgun et al., 1988; Nakamura et al., 1988; Kroon et al., 1990; Nielsen et al., 1996). Trueblood et al. (1991) desenvolveram um ELISA de maior especificidade para *A. marginale* utilizando um painel de anticorpos monoclonais.

A IFI é mais indicada para pesquisas onde são requisitadas titulações (Wilson et al., 1978; Wright, 1990). Goff et al. (1985) desenvolveram uma IFI modificada utilizando microfluorometria. De acordo com os autores, a

fluorometria mede a intensidade da fluorescência, o que proporciona uma maior sensibilidade ao teste para identificação de bovinos que apresentam infecções com *Anaplasma*. A IFI é considerada uma prova simples e sensível para detecção de animais infectados com *A. marginale*, quando comparada com CT (Gonzalez et al., 1978; Akinboade & Dipeolu, 1984; Wright, 1990). Este teste vem sendo utilizado em estudos de prevalência sorológica da anaplasmoze em muitas regiões do mundo (Kroon et al., 1990; Wright, 1990; Alonso et al., 1992; Jorgensen et al., 1992).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 LOCAL E PERÍODO

Este estudo foi realizado em duas propriedades de exploração leiteira, a fazenda Barreiro Alto, localizada no município de Sete Lagoas e a fazenda HMS, no município de Cordisburgo.

Estes municípios situam-se na Região Metalúrgica do estado de Minas Gerais, que de acordo com a classificação climática de Köppen possui um clima do tipo Cwa, cujas características são de clima temperado chuvoso (mesotérmico) com inverno seco e verão chuvoso, condições essas, dominantes na região dos Cerrados. A temperatura média do mês mais frio é inferior a 18°C e a do mês mais quente é superior a 22°C. Embora a precipitação anual seja elevada, da ordem de 1350 mm, o regime das chuvas apresenta período de seca bem definido (maio a agosto) e a precipitação se concentra no período de novembro a março. Não é rara a ocorrência de intensas precipitações em 24 horas (Antunes, 1986; Magalhães, 1989).

O município de Sete Lagoas localiza-se a uma altitude de 766 m, latitude 19°27'S e longitude 44°14'W, com temperatura média de 21,5°C, enquanto o município de Cordisburgo, a uma altitude de 700 m, latitude de 19°07'S e longitude de 44°19'W, com temperatura média de 20,9°C.

Na fazenda Barreiro Alto, a coleta de amostras de sangue foi realizada durante o período de março a dezembro de 1997, enquanto na fazenda HMS, foi de março de 1997 a maio de 1998. Foram realizadas semanalmente, avaliações

clínicas e anotações de todas as ocorrências de cada animal, do nascimento até o final do estudo.

### 3.2 ANIMAIS

#### 3.2.1 FAZENDA HMS

Foram utilizadas 55 bezerras da raça Holandesa, que foram divididas em dois grupos, quanto ao período de nascimento: grupo 1, composto de 30 animais nascidos no período de março a julho, e grupo 2, composto de 25 animais nascidos no período de setembro a dezembro. Os animais foram identificados com brincos numerados logo após o nascimento e expostos ao *A. marginale* por infestação natural de vetores.

O sistema de manejo consistiu na separação das bezerras das mães logo após o recebimento do colostro no primeiro dia de vida. Em seguida, as bezerras foram mantidas em gaiolas individuais e passaram a receber diariamente, até 30 dias de idade, 4 kg de leite, água à vontade, ração comercial e feno "croast cross". A partir deste período, foram transferidas para baias coletivas com acesso restrito ao pasto (duas vezes por semana) até 60 dias de idade, quando foram transferidas definitivamente para o pasto (grama estrela africana) com suplementação de ração comercial, mistura mineral e água à vontade.

#### 3.2.2 FAZENDA BARREIRO ALTO

Foram utilizadas 33 bezerras das raças Holandesa e Pardo Suiço, nascidas no período de março a julho. Os animais foram identificados com brincos numerados logo após o nascimento e expostos à infestação natural de vetores.

O manejo consistiu na separação das bezerras das mães logo após o recebimento do colostro. Em seguida, passaram a receber diariamente 4 kg de leite, ração comercial e água à vontade, e foram mantidas em gaiolas individuais móveis, até 60 dias de idade. A partir deste período foram transferidas para o pasto (*Brachiaria decumbens*) com suplementação de ração comercial, mistura mineral e água à vontade.

### 3.3 EXAMES REALIZADOS

As amostras sanguíneas foram obtidas semanalmente, por meio de punção da veia jugular. O sangue coletado foi acondicionado em

tubos de ensaio contendo solução de ácido etileno diamino-tetracético (EDTA) a 10%.

O processamento das amostras de sangue, bem como a realização das técnicas hematológicas e sorológicas foram feitas no Laboratório de Protozooses do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária e no Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

#### 3.3.1 DETERMINAÇÃO DA PARASITEMIA (%)

Das amostras coletadas foram feitos esfregaços sanguíneos, que foram fixados em álcool metílico, por cinco minutos à temperatura ambiente, e corados pelo método de Giemsa (Schalm et al., 1975). Os esfregaços foram examinados ao microscópio de luz sob objetiva de imersão, sendo contados 40 campos homogêneos de aproximadamente 200 hemácias cada, e calculada a percentagem de hemácias parasitadas.

#### 3.3.2 DETERMINAÇÃO DO VOLUME GLOBULAR (%)

Foram utilizados tubos capilares para cada amostra de sangue, os quais foram encheidos por ação capilar. A extremidade oposta ao tubo foi vedada com uma massa especial. Depois de lacrados, os tubos foram colocados em uma centrífuga de microhematócrito. Após centrifugação a 12000g por cinco minutos, os tubos foram colocados cuidadosamente em uma escala de leitura especial para determinação do volume globular (VG) (Schalm et al., 1975).

#### 3.3.3 IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

##### 3.3.3.1 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Para realização da reação de Imunofluorescência Indireta (IFI) foram acompanhadas 23 bezerras da fazenda HMS, nascidas no período de março a junho, e 33 bezerras da fazenda Barreiro Alto, nascidas no período de março a julho. As amostras foram examinadas a cada quatro semanas, até dezembro para a fazenda HMS e até novembro para Barreiro Alto.

As amostras sanguíneas coletadas com EDTA foram centrifugadas a 1000g por dez minutos. O plasma foi retirado e congelado a -20°C até o momento de uso.

### 3.3.3.2 PREPARO DO ANTÍGENO PARA IFI

Foi utilizado antígeno bruto de *A. marginale* produzido no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG.

Bezerros recém-nascidos foram esplenectomizados e inoculados experimentalmente com amostra de *A. marginale*. Os animais foram monitorados diariamente por meio da tomada de temperatura e esfregaços de sangue. Quando foi constatada parasitemia de 6%, 250 ml de sangue foi coletado com anticoagulante. Este sangue foi submetido à centrifugação, o plasma e a camada de leucócitos foram retirados e as hemácias lavadas três vezes em solução tampão fosfatada (PBS). Finalmente, as hemácias foram suspensas em PBS para obtenção do VG de 23%. Esfregaços foram confeccionados, fixados por dez minutos com acetona resfriada a 4°C e armazenados a -20°C até sua utilização.

### 3.3.3.3 IFI

O antígeno foi descongelado à temperatura ambiente, imediatamente antes de seu uso. Foram feitas marcações em forma de anéis, utilizando-se esmalte de unha, para demarcação dos locais de reação do antígeno e imunoglobulinas.

Os plasmas foram descongelados à temperatura ambiente e, em seguida, diluídos em solução tampão fosfatada (PBS) pH 7,2 utilizando-se fator quatro de diluição (1:40; 1:160; 1:640; 1:2560). Os plasmas diluídos foram incubados com o antígeno a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Após incubação, as lâminas foram lavadas em PBS por duas vezes e, mais duas vezes em água destilada, e secas à temperatura ambiente. Após secagem das lâminas, foi aplicada uma anti-imunoglobulina marcada, o conjugado fluoresceína-anti-IgG bovino\*, diluído 1:160 em PBS-Tween 20. As lâminas foram incubadas por 30 minutos a 37°C. Em seguida, as lâminas foram submetidas ao mesmo processo de lavagem, secas e cobertas

com glicerina tamponada 10%, e examinadas por meio do microscópio de luz ultravioleta. Em cada lâmina de antígeno foram colocados os soros controles positivo e negativo e o controle PBS.

O título de anticorpos foi obtido pela maior diluição em que houve fluorescência. O teste foi realizado conforme técnica descrita no manual do IICA (INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA - IICA, 1987).

## 3.4 ESTATÍSTICA

Foram utilizadas as médias e desvio padrão para o estudo do volume globular, enquanto para as parasitemias, o cálculo das medianas (Me). Para análise das variáveis em estudo foi empregado o teste do X<sup>2</sup> (qui-quadrado) (Sampaio, 1998).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 CONDIÇÕES CLIMÁTICAS

Na Região Metalúrgica, a precipitação pluviométrica concentra-se no período de novembro a março, apresentando período de seca bem definido (maio a agosto). Na figura 1 estão representados os dados de temperatura e precipitação pluviométrica da região, no período de 1994 a 1998.

Durante os meses de abril a agosto, a temperatura média foi inferior a 20°C e, ocorreu precipitação pluviométrica inferior a 50 mm, condições consideradas pouco favoráveis ao ciclo biológico de carrapatos e moscas hematófagas. A partir de setembro há aumento da temperatura média e das chuvas mensais oferecendo condições favoráveis ao ciclo dos vetores (Fig.1).

\*Produzido no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da EV/UFMG

## 4.2 FAZENDA HMS

### 4.2.1 PRIMO-INFECÇÃO

Dos animais nascidos no período de março a junho (grupo 1), nove (30%) adquiriram a infecção nos primeiros 90 dias de vida. O restante das bezerras (70%) apresentou infecção a partir de 150 a 240 dias de idade (Fig.2).

Dos animais do grupo 1, 16 (53%) apresentaram as primeiras hemácias parasitadas no mês de novembro (Fig.3). Dos animais que tiveram infecção neste período, 3% nasceram em março; 7%, em abril; 23%, em maio e 20%, em junho. Destes animais, 33% tiveram a primo-infecção com idade média de 180 dias de vida (Fig.2).

Dos animais nascidos no período de setembro a dezembro (grupo 2), 11 (44%) adquiriram infecção nos primeiros 90 dias de vida, enquanto o restante das bezerras (56%) apresentou infecção a partir de 120 a 210 dias de vida (Fig.4).

Dos animais do grupo 2, 13 (52%) tiveram a primo-infecção no mês de janeiro (Fig.5). Dos animais que tiveram infecção neste período, 24% nasceram em setembro; 4%, em outubro; 12%, em novembro e 12%, em dezembro. Destes animais, 72% tiveram a primo-infecção com idade média de 120 dias de vida (Fig.4).

### 4.2.2 PARASITEMIA

No grupo 1, as parasitemias aos 30 dias oscilaram entre 1,5% e 3,6% (Me=2,6%); aos 60 dias entre 0,5% e 1,2% (Me=1,5%); aos 90 dias entre 0,01% e 0,08% (Me=0,05%); aos 120 dias entre 0,5% e 1,7% (Me=0,8%); aos 150 dias entre 0,7% e 1,5% (Me=1,2); aos 180 dias entre 1,2% e 1,6% (Me=1,4%) e aos 210 dias de idade entre 2,3% e 5,3% (Me=3,8%). As parasitemias mais elevadas ocorreram aos 210 dias de vida.

No grupo 2, as parasitemias oscilaram aos 30 dias entre 0,5% e 0,7% (Me=0,6%); aos 60 dias entre 0,06% e 0,8% (Me=0,6%); aos 90 dias entre 0,7% e 1,3% (Me=0,8%); aos 120 dias entre 0,3% e 0,7% (Me=0,6%); aos 150 dias entre 0,4% e 1,2% (Me=0,8%) e aos 180 dias de idade entre 1,1% e 1,7% (Me=1,4%). As parasitemias mais elevadas ocorreram aos 180 dias de vida.

Os picos de parasitemias ocorreram durante os meses de junho e novembro para o grupo 1, e nos meses de abril e maio para o grupo 2 (Fig. 6). Os picos de parasitemia foram observados no período de sete a 35 dias após o aparecimento das primeiras hemácias parasitadas.

Recrudescência de parasitemia foi observada em 22 (40%) dos 55 animais estudados, sendo oito (15%) em bezerras do grupo 1 e 14 (25%) em bezerras do grupo 2. A primeira recrudescência ocorreu a partir de 30 dias após o pico, sendo observadas parasitemias de 1,1% a 1,8% (Me=1,7%). Uma segunda recidiva foi observada em 24% das bezerras, ocorrendo entre 20 e 40 dias após a primeira recidiva (Me=1,6%).

### 4.2.3 VOLUME GLOBULAR

O volume globular (VG) médio, verificado antes do período patente do *A. marginale*, foi de 33% para ambos os grupos. Após a parasitemia o VG médio reduziu para 25% no grupo 1, e 27% no grupo 2, havendo significância estatística ( $P<0,05$ ) entre os valores médios antes e após a primo-infecção. O VG médio nas recidivas foi de 25% e 26% para os respectivos grupos de animais. Não foi observada diferença estatisticamente significativa ( $P<0,05$ ) no VG entre a primo-infecção e as recidivas.

No grupo 1, o VG de 25% permaneceu por um período que variou de 15 a 98 dias, enquanto no grupo 2, permaneceu a 27% por sete dias.

### 4.2.4 SOROLOGIA

Reações positivas de Imunofluorescência Indireta (IFI) para *A. marginale* foram observadas em 12 das 23 bezerras testadas, representando uma prevalência média de animais com anticorpos de 52%.

Os títulos máximos de anticorpos ocorreram em animais com idade entre 210 e 240 dias de vida, correspondendo ao período logo após o pico da parasitemia patente (Fig.7).

Dos animais positivos para *A. marginale*, cinco (42%) apresentaram títulos mais elevados (1:2560) através da IFI (Fig.7).

### 4.3 FAZENDA BARREIRO ALTO

#### 4.3.1 PRIMO-INFECÇÃO

Nesta propriedade, das 33 bezerras estudadas, 22 (67%) adquiriram infecção por *A. marginale*, e destas, apenas nove (41%) se infectaram nos primeiros 90 dias de vida, enquanto 59% apresentaram infecção entre 120 e 210 dias de idade (Fig. 2).

Dos animais infectados, 11 (50%) tiveram a primo-infecção no período de setembro (14%) e outubro (36%) (Fig. 8). Dos animais que tiveram infecção neste período, 9% nasceram em abril; 27%, em maio e 14% em junho. Destes animais, 32% tiveram a primo-infecção com idade média de 90 dias de vida (Fig. 2).

#### 4.3.2 PARASITEMIA

As parasitemias oscilaram aos 30 dias entre 0,8% e 1,8% (Me=1,3%); aos 60 dias entre 0,1% e 1,6% (Me=0,6%); aos 90 dias entre 0,3% e 3,1% (Me=2,2%); aos 120 dias entre 0,5% e 1,1% (Me=0,7%); aos 150 dias entre 2,4% e 3,5% (Me=3,3%) e aos 180 dias de idade entre 0,8% e 3,3% (Me=2,6%). As parasitemias mais elevadas ocorreram aos 150 dias de vida.

As parasitemias foram elevadas, principalmente durante sete a dez dias após o aparecimento de hemácias parasitadas. Os picos de parasitemias ocorreram durante os meses de julho e outubro, conforme observado na Figura 9.

Recrudescência de parasitemia foi observada em oito (24%) dos 33 animais. As parasitemias oscilaram entre 0,3% e 1,5% (Me=1%), que foram observadas a partir de 20 dias após o pico de parasitemia.

#### 4.3.3 VOLUME GLOBULAR

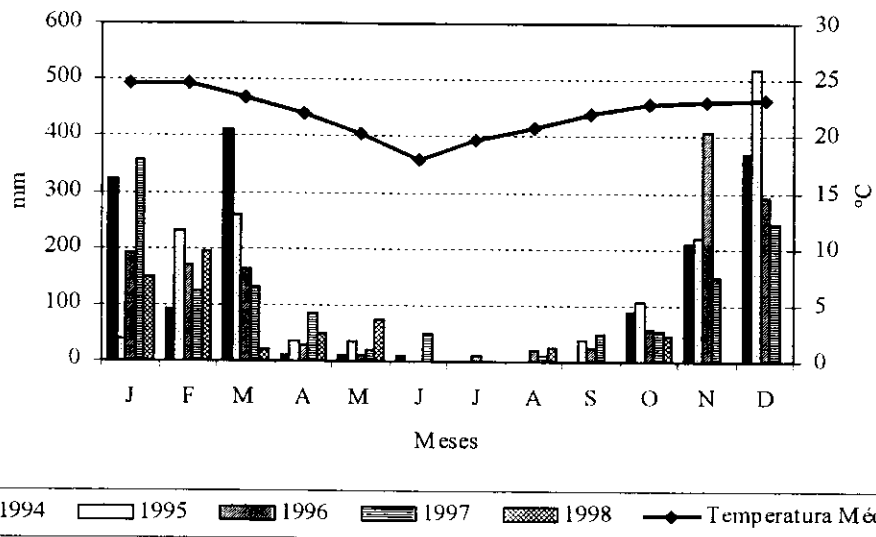
O volume globular (VG) médio, verificado antes do período patente do *A. marginale*, foi de 32%. Após a parasitemia, o VG médio reduziu para 24% na primeira semana de infecção, havendo diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) entre os valores médios antes e após a primo-infecção. O VG médio nas recidivas foi de 25%, não sendo observada diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) no VG entre a primo-infecção e as recidivas. O VG permaneceu reduzido por um período que variou de sete a 105 dias.

#### 4.3.4 SOROLOGIA

Reações positivas de IFI para *A. marginale* foram observadas em 19 dos 33 bezerros testados, representando uma prevalência média de animais com anticorpos de 58%.

Os títulos máximos de anticorpos ocorreram em animais com idade entre 180 e 240 dias, correspondendo ao período logo após o pico da parasitemia patente (Fig. 10).

Dos animais positivos para *A. marginale*, oito (42%) apresentaram títulos mais elevados (1:2560) através da IFI (Fig. 10).



Fonte: Estação Climatológica de Cordisburgo.

Figura 1 – Temperatura e precipitação pluviométrica na Região Metalúrgica, MG, no período de 1994 a 1998.

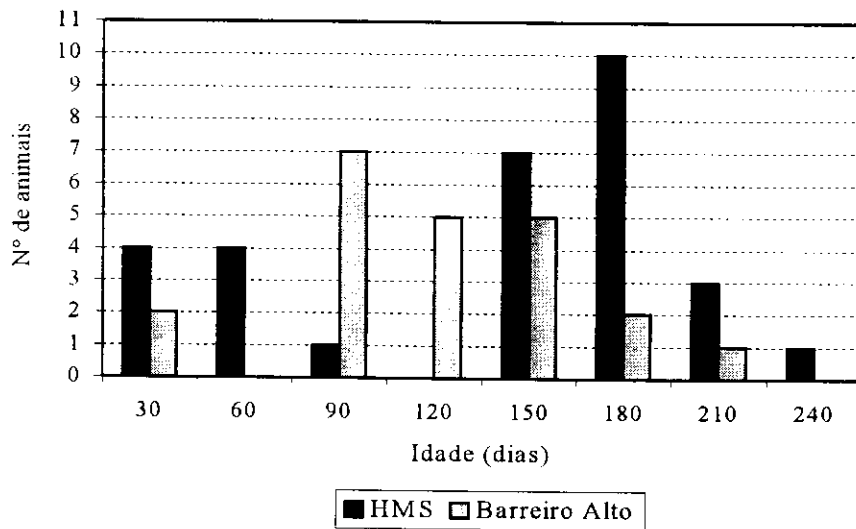


Figura 2 – Idade da primo-infecção por *A. marginale* em bezerras nascidas no período de março a julho, nas fazendas HMS e Barreiro Alto, Região Metalúrgica, MG, 1997.

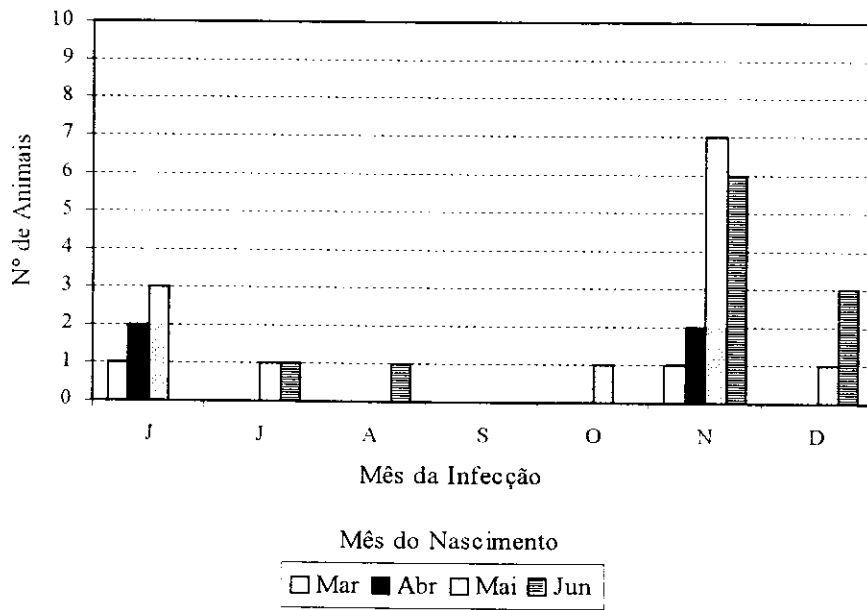


Figura 3 – Primo-infecção por *A. marginale* em bezerras nascidas de março a junho, na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.

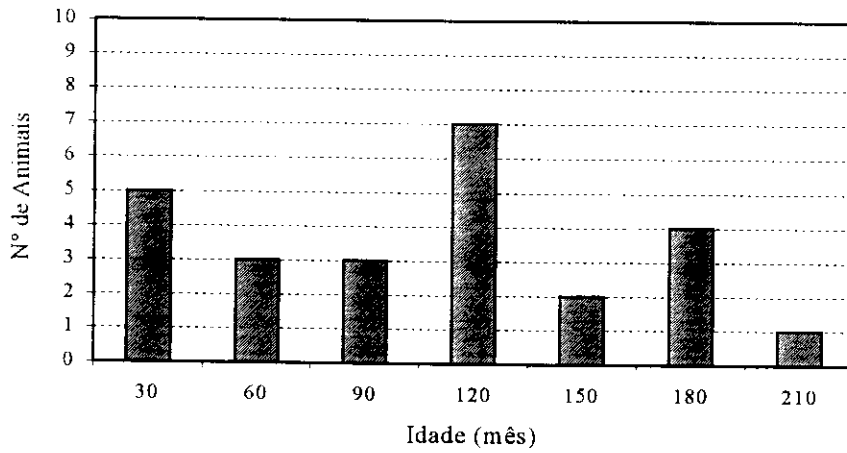


Figura 4 - Idade da primo-infecção por *A. marginale* em bezerras nascidas no período de setembro a dezembro, na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.

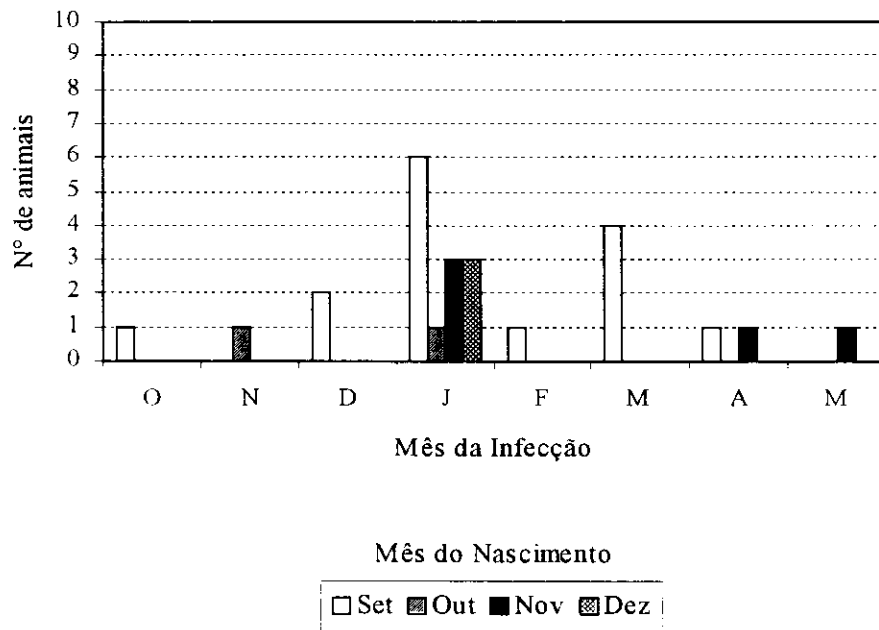


Figura 5 – Primo-infecção por *A. marginale* em bezerras nascidas de setembro a dezembro, na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.

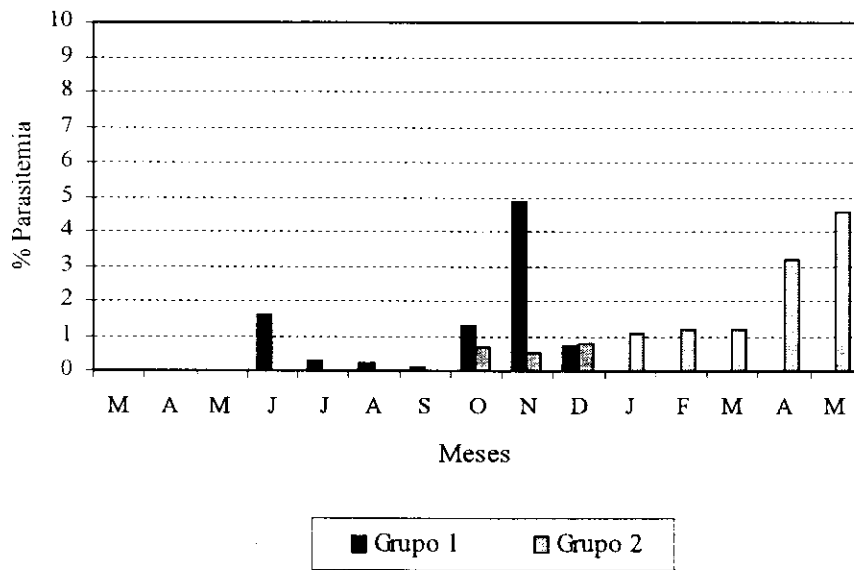


Figura 6 – Parasitemia média de *A. marginale*, em bezerras nascidas no período de março a junho (grupo 1) e no período de setembro a dezembro (grupo 2), na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.

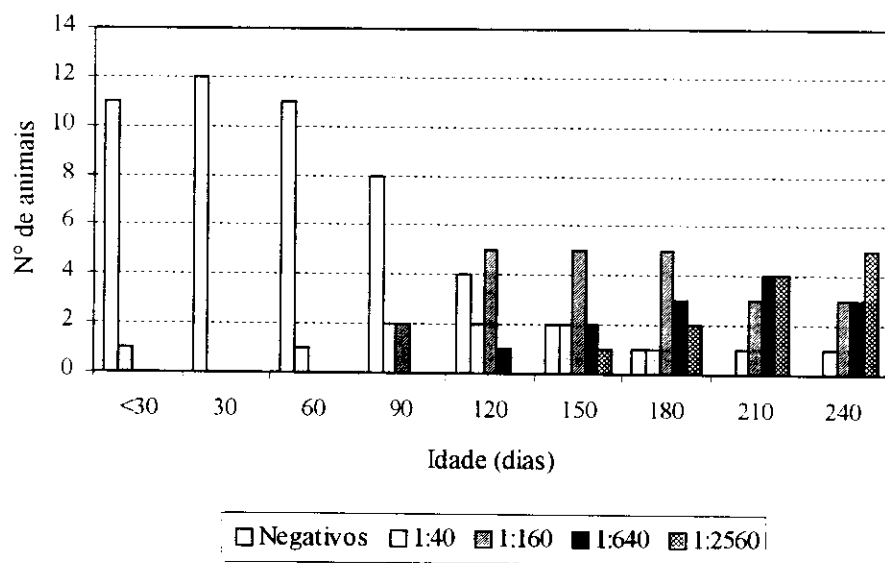


Figura 7 – Frequência de anticorpos anti-*A. marginale* (IFI), em bezerras nascidas no período de março a junho, na fazenda HMS, Região Metalúrgica, MG, 1997.

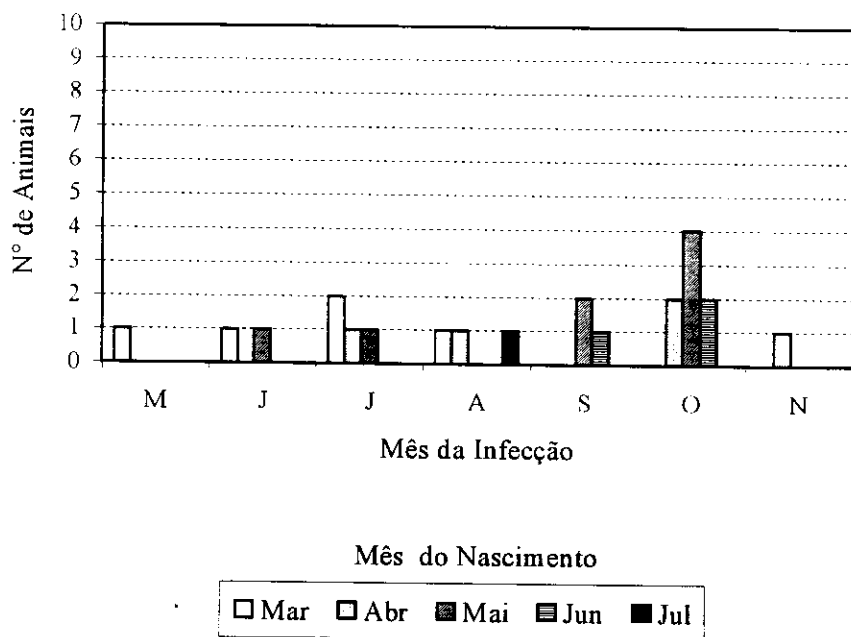


Figura 8 – Primo-infecção por *A. marginale* em bezerras nascidas no período de março a julho, na fazenda Barreiro Alto, Região Metalúrgica, MG, 1997.

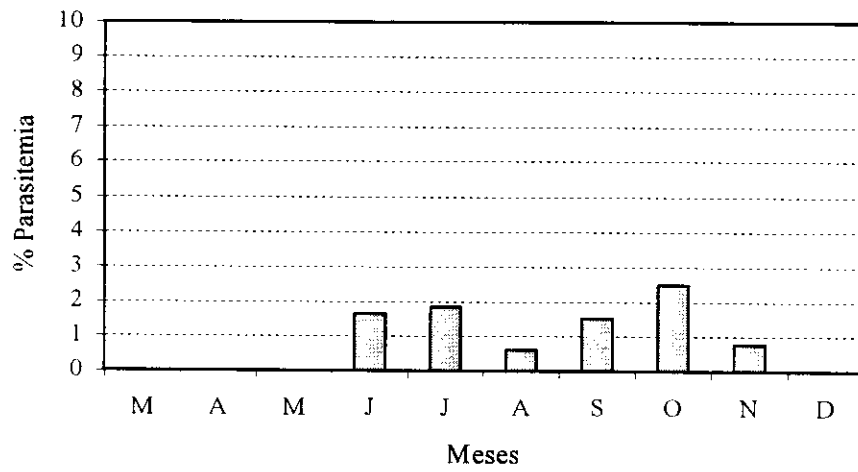


Figura 9 – Parasitemia média de *A. marginale*, em bezerras nascidas no período de março a julho, na fazenda Barreiro Alto, Região Metalúrgica, MG, 1997.

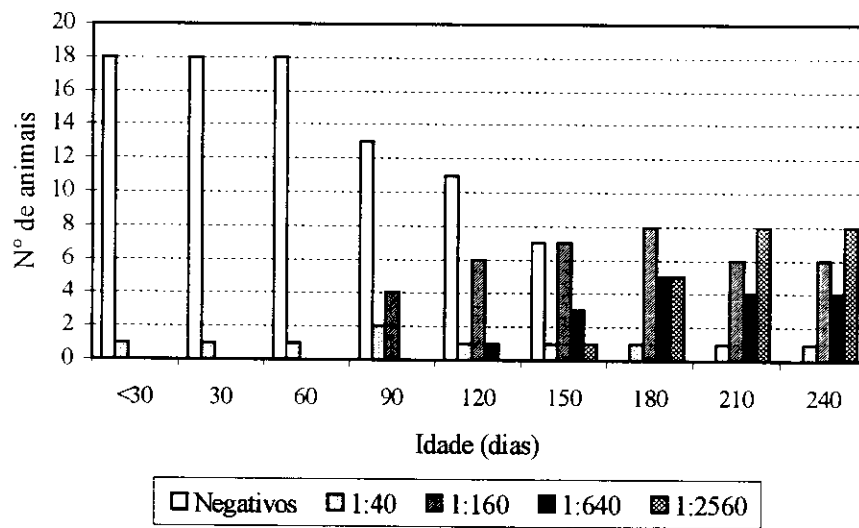


Figura 10 – Frequência de anticorpos anti-*A. marginale* (IFI), em bezerras nascidas no período de março a julho, na fazenda Barreiro Alto, Região Metalúrgica, MG, 1997.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 TRANSMISSÃO E PRIMO-INFECÇÃO

Os dados apresentados na Figura 1, caracterizam dois períodos bem definidos, e sugerem uma relação direta entre as condições climáticas e a transmissão do *A. marginale* na região estudada.

O *A. marginale* pode ser transmitido por vetores artrópodes, tais como, os carrapatos, as moscas hematófagas e os mosquitos (Wanduragala & Ristic, 1993). Das espécies de carrapatos citadas como vetores da anaplasmose, o *B. microplus* tem sido considerado como o principal transmissor dessa rickettsia nas regiões tropicais e subtropicais (Losos, 1986). A importância do *B. microplus* tem sido questionada nas condições brasileiras (Ribeiro et al., 1996). A transmissão transovariana em *B. microplus*, ainda apresenta controvérsias, pois vários trabalhos não conseguiram confirmá-la, sendo considerada um mecanismo de transmissão que não ocorre com muita frequência na natureza (Losos, 1986). Ribeiro & Lima (1995a) observaram que a temperatura parece interferir na sobrevivência do *A. marginale* nos órgãos dos carrapatos. No nosso meio, uma temperatura ambiente mais baixa (inverno) poderia prolongar o período de pré-postura e de postura do *B. microplus*, o que possibilitaria a multiplicação do *A. marginale*, permitindo seu acesso ao ovário do carrapato, entretanto estes autores não conseguiram confirmar tal mecanismo de transmissão (Ribeiro et al., 1996).

Embora o *B. microplus* seja monoxênico, alguns trabalhos têm demonstrado a transferência do carrapato de um bovino para o outro, possibilitando a ocorrência de transmissão transtadial (Bennett, 1974; Aguirre et al., 1994). A transmissão transtadial da anaplasmose assume real importância, uma vez que os bezerros podem se infestar com os carrapatos da própria mãe durante a amamentação. As transmissões transtadial e intraestadial são mais eficientes nos sistemas de criações intensivas, onde o contato físico entre os animais é mais frequente, permitindo a transferência de carrapatos (Aguirre et al., 1994).

Na Região Metalúrgica foi observada a ocorrência de um número médio de quatro gerações por ano do *B. microplus*, sob condições

naturais. A infestação foi observada durante todo o ano, apresentando pico de maior incidência entre os meses de novembro a janeiro, quando a temperatura média foi superior a 20°C (Magalhães, 1989). Quanto à flutuação populacional de moscas hematófagas nesta região, foi observada a ocorrência de dois picos de maior incidência nos meses de outubro (primavera) e janeiro (verão), quando as condições climáticas da região estão favoráveis para o desenvolvimento destes vetores (Batista, 1998).

Neste contexto, nas propriedades estudadas, observam-se duas situações distintas para o desenvolvimento desses vetores transmissores. No período de setembro a dezembro, o aumento da precipitação pluviométrica e da temperatura média foi favorável para o desenvolvimento da população do *B. microplus* e moscas hematófagas.

No mês de abril (outono) a transmissão do *A. marginale* foi afetada, devido à redução na população de vetores, carrapatos e insetos hematófagos, que foi ocasionada por condições climáticas desfavoráveis ao ciclo biológico dos mesmos, tais como, queda na temperatura e na precipitação pluviométrica.

A bovinocultura de leite, geralmente emprega as estações de monta por terem um efeito positivo considerável sobre a produtividade geral das fazendas. A concentração de partos e subseqüentes operações (desmama, suplementações alimentares, vacinações/vermifugações, etc.) facilita o controle e o manejo do rebanho. Entretanto, a concentração de um maior número de nascimentos de bezerros, em períodos pouco favoráveis para a transmissão da anaplasmose (estação seca), determina um risco maior de infecção, quando estes animais são expostos às condições de elevada transmissão durante a estação chuvosa subseqüente.

Muito dos animais nascidos no período de março a julho, tanto na fazenda HMS, como em Barreiro Alto, sofreram a infecção por *A. marginale* no início dos meses de outubro e novembro, respectivamente, independente da idade do animal. Observando a Figura 1, verifica-se que estes dados coincidem com o aumento da temperatura e início da precipitação

pluviométrica na região, que resultam em aumento da população de vetores transmissores da anaplasmosse bovina. As bezerras nascidas nesse período, foram desafiadas com baixa população de vetores, contraindo a infecção quando iniciaram as chuvas e quando ocorreu aumento da temperatura média na região, o que foi verificado a partir de setembro.

Os animais que nasceram no período de setembro a dezembro (grupo 2) da fazenda HMS adquiriram a infecção nos primeiros dias de vida, apresentando parasitemia patente a partir de 30 dias de idade, sendo observada, na sua maioria, no mês de janeiro. A ocorrência da primo-infecção por *A. marginale*, a partir de 30 dias de vida, em área endêmica, sob condições climáticas favoráveis, foi também constatada por outros pesquisadores (Corrier & Guzman, 1977; Ribeiro, 1979; Madruga et al., 1985).

Conforme verificada, a primo-infecção nas duas fazendas ocorreu igualmente, nos primeiros dias de vida, apresentando pequenas diferenças relacionadas ao período de exposição aos vetores, que foi determinado pelo sistema manejo de cada fazenda. Na fazenda HMS, as bezerras foram submetidas a uma exposição moderada a partir dos 30 dias de vida, enquanto na fazenda Barreiro Alto, a uma exposição definitiva ao pasto a partir de 60 dias de vida.

## 5.2 PARASITEMIA

A ocorrência da parasitemia em animais com idade acima de 150 dias de vida, está de acordo com os achados de Ristic (1968). Este fato está relacionado com a menor susceptibilidade dos animais jovens, devido à proteção parcial de anticorpos colostrais (Madruga et al., 1984), à maior atividade eritropoiética da medula óssea (Ristic et al., 1958), à imunidade celular (Buening, 1973) e função protetora da hemoglobina fetal (Anderson et al., 1972). Apesar da menor susceptibilidade natural das bezerras, as parasitemias elevadas ocorreram nos meses de outubro e novembro, período chuvoso na região estudada, coincidente com o aumento da população de vetores.

## 5.3 VOLUME GLOBULAR

O decréscimo do volume globular ocorreu uma semana após o pico de parasitemia. Este fato

concorda com relatos de outros pesquisadores (Ristic, 1968; Corrier & Guzman, 1977; Ribeiro, 1979).

Foi constatada diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) entre os valores médios do VG antes e após a primo-infecção, entretanto não foi observada significância estatística ( $P < 0,05$ ) nos valores médios do VG entre primo-infecção e recidivas, sugerindo que os animais, após sofrerem a infecção, recuperam-se e tornam-se portadores, com o retorno dos valores do VG aos níveis normais. Este fato foi também relatado por outros autores (Ristic, 1968; Corrier & Guzman, 1977).

## 5.4 SOROLOGIA

A prevalência de animais positivos com anticorpos anti-*A. marginale* de 55% em bezerras sugere que a anaplasmosse é de caráter endêmico na região onde estão localizadas ambas as propriedades, fato relatado por outros pesquisadores (Ribeiro, 1979; Ribeiro & Reis, 1981a).

A prevalência total de bezerras com anticorpos anti-*A. marginale* encontrada na região estudada foi consideravelmente menor que as relatadas por outros autores. Em El Salvador, Payne & Scott (1982) observaram uma prevalência de anticorpos de 78,5% para *A. marginale*. No Paraguai Akinboade & Dipeolu (1984) encontraram 68% de prevalência, enquanto James et al. (1985) encontraram 57,7%. Em uma área estável para anaplasmosse do Paraguai, Payne & Osorio (1990) observaram 92% de prevalência.

Por outro lado, existem relatos de menor prevalência que a relatada neste estudo. Obi (1978) fazendo um estudo em gado zebuino na Nigéria, observou 34% de prevalência de *A. marginale*. Knowles et al. (1982) utilizando o CT encontraram 25% de prevalência. Em Cuba, em uma situação de epizootia instável, Alonso et al. (1992) observaram que 43% dos animais apresentaram reações positivas de IFI.

## 5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os animais nascidos na estação chuvosa (setembro a março), expostos às condições favoráveis de transmissão deste período,

adquirem a infecção por *A. marginale* nos primeiros dias de vida. Em áreas enzoóticas com altos níveis de transmissão, os bezerros são geralmente infectados nos primeiros dias de vida e, geralmente sofrem uma doença clínica moderada, devido à proteção parcial dos anticorpos colostrais, à imunidade celular, à ação eritropoiética da medula óssea e à função protetora da hemoglobina fetal. Enquanto que os bezerros nascidos na estação seca (abril a agosto) adquirem a infecção quando ocorre aumento das condições favoráveis para transmissão. A maioria dos proprietários adota estação de monta visando nascimento de bezerros no período de seca (abril a setembro), a fim de estabelecer cota de leite nas cooperativas. Este fato determina um risco maior de casos clínicos, quando estes animais são expostos às condições favoráveis de transmissão. Portanto, estes animais encontram-se vulneráveis à infecção no início da estação chuvosa subsequente, quando é observado o aumento da população de vetores transmissores. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que, na região Metalúrgica de Minas Gerais, os animais nascidos no período de abril a agosto (estação seca) necessitam ser submetidos à uma medida preventiva, no início da estação chuvosa, evitando-se as perdas econômicas decorrentes de mortalidade e medicamentos no tratamento dos casos clínicos.

Várias pesquisas sobre prevenção e tratamento da anaplasmoze bovina vêm sendo desenvolvidas para proteção dos animais susceptíveis. A imunização, utilizando inóculos com doses padronizadas de *Anaplasma*, bem como a quimioprofilaxia e tratamento pelo uso de tetraciclina, são os métodos disponíveis e mais recomendados para controle desta doença. A imunização pode ser usada para proteger os rebanhos em regiões com níveis de transmissão elevados ou baixos, bem como em rebanhos altamente susceptíveis, como os importados para áreas enzoóticas. O método de imunização empregado requer que o indivíduo desenvolva uma infecção patente primária. O animal permanece persistentemente infectado e pode desenvolver uma imunidade sólida a desafios homólogos e/ou heterólogos.

Na anaplasmoze, as tetraciclina têm sido administradas, por serem específicas para o tratamento de ricketsemias, bem como uma importante medida de controle. A eficiência da

quimioprofilaxia está relacionada com o período em que é aplicada nos animais, sendo mais eficiente quando a rickettsia inicia sua multiplicação, momento em que é mais susceptível à ação de inibição do medicamento. A administração de um inóculo padronizado de *A. marginale* associado à quimioprofilaxia pode ser também uma alternativa para o controle desta doença.

## 6 CONCLUSÕES

- Na situação epidemiológica estudada, observam-se duas condições distintas quanto à transmissão da anaplasmoze bovina: na estação chuvosa (primavera/verão) ocorre aumento da infecção por *Anaplasma marginale*, enquanto na estação seca (outono/inverno) ocorre redução.
- A ocorrência da primo-infecção é influenciada pelas estações do ano, independentemente da idade do animal.
- Os animais nascidos na estação seca são mais susceptíveis à infecção por *Anaplasma*, quando expostos às condições de transmissão da estação chuvosa.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOYTES-TORRES, R., RODRIGUEZ, S.D., VEJA, C.A. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis. *Arch. Med. Res.*, v.25, n.2, p.247-252, 1994.
- AGUIRRE, D.H., GAIDO, A.B., VINABAL, A.E., De ECHAIDE, S.T., GUGLIELMONE, A.A. Transmission of *Anaplasma marginale* with adult *Boophilus microplus* ticks fed as nymphs on calves with different levels of rickettsaemia. *Parasite*, v.1, n.4, p.405-407, 1994.
- AKINBOADE, O.A., DIPEOLU, O.O. Comparison of blood smear and indirect fluorescent antibody techniques in detection of hemoparasite infections in trade cattle in Nigeria. *Vet. Parasitol.*, v.14, n.2, p.95-104, 1984.

- ALONSO, M., ARRELANO-SOTA, C., CERESER, V.H., CORDOVES, C.O., GUGLIEMONE, A.A., KESSLER, R., MANGOLD, A.J., NARI, A., PATARROYO, J.H.S., SOLARI, M.A., VEJA, C.A., VIZCAÍNO, O., CAMUS, E. Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Latin America and Caribbean. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.**, v.11, n.3, p.713-733, 1992.
- AMERHAULT, T.E., ROSE, J.E., KUTTLER, K.L. Comparative titration of *Anaplasma marginale* antibodies by card agglutination and complement-fixation tests. **Am. J. Vet. Res.**, v.42, n.6, p.1055-6, 1981.
- 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.12, n.138, p.9-13, 1986.
- BARRY, D.N., PARKER, R.J., DE VOS, A.J., DUNSTER, P., RODWELL, B.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.
- BATISTA, Z.R. *Dermatobia hominis* (L. Jr., 1781) (Diptera: Oestridae: Cuterebrinae): ciclo silvestre e ecologia das infestações de bovinos pelo berne no município de Pedro Leopoldo, MG, Brasil. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1998. 115p. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Colegiado do cursos de Pós-graduação em Parasitologia, 1998.
- BENNETT, G.F. *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acaridae-Ixodidae) on the bovine host. I. Mortality during the development cycle. **Acarologia**, v.16, n.4, p.643-650, 1974.
- BOCK, R.E., DE VOS, A.J., KINGSTON, T.G., McLELLAN, D.J. Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale*. **Aust. Vet. J.** v.75, n.5, p.337-340, 1997.
- 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. Tick-borne livestock diseases and their vectores. Australian methods of vaccination against anaplasmosis and babesiosis. **Word. Anim. Rev.**, n.18, p.9-15, 1976.
- CORRIER, D.E., GUZMAN, S. The effect of natural exposure to *Anaplasma marginale* and *Babesia* infections on native calves in an endemic area of Colombia. **Trop. Anim. Health. Prod.**, v.9, n.1, p.47-51, 1977.
- DUZGUN, A., SCHUNTNER, C.A., WRIGHT, I.G., LEATCH, G., WALTISBUHL, D.J. A sensitive ELISA technique for the diagnosis of *Anaplasma marginale* infections. **Vet. Parasitol.**, v.29, n.1, p.1-7, 1988.
- GOFF, W.L., JOHNSON, W.C., KUTTLER, K.L. Development of an indirect fluorescent antibody test using microfluorometry as a diagnostic test for bovine anaplasmosis. **Am. J. Vet. Res.**, v.45, n.5, p.1080-1084, 1985.
- GONZALEZ, E.F., LONG, R.F., TODOROVIC, R.A. Comparison of the complement-fixation, Indirect Fluorescent Antibody, and Card Agglutination Tests for the diagnosis of bovine anaplasmosis. **Am. J. Vet. Res.**, v.39, n.9, p.1538-1541, 1978.
- GUGLIEMONE, A.A. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. **Vet. Parasitol.**, v.57, n.1, p.109-119, 1995.

- GUGLIELMONE, A.A., ABDALA, A.A., ANZIANI, O., MANGOLD, A.J., VALPOGNI, M.M., VANZINI, V.R. Different seasonal occurrence of anaplasmosis outbreaks in beef and dairy cattle in an area of Argentina free of *Boophilus microplus* ticks. **Vet. Q.**, v.19, n.1, p.32-33, 1997.
- HUNGERFORD, L.L., SMITH, R.D.V. Variations in seroprevalence and host factors for bovine anaplasmosis in Illinois. **Vet. Res. Commun.**, v.21, n.1, p.9-18, 1997.
- INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA - IICA. **Técnicas para el diagnóstico de babesiosis y anaplasmosis bovinas**. San José, 1987. 79p.
- JAMES, M.A., CORONADO, A., LOPES, W., MELENDEZ, R., RISTIC, M. Seroepidemiology of bovine anaplasmosis e babesiosis in Venezuela. **Trop. Anim. Health. Prod.**, v.17, n.1, p.9-18, 1985.
- JONES, E.W., KLIEWER, I.O., NORMAN, B.B., BROCK, W.E. *Anaplasma marginale* infection in young and aged cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v.29, n.3, p.535-544, 1968.
- JORGENSEN, W.K., WEILGAMA, D.J., NAVARATNE, M., DALGLIESH, R.J. Prevalence of *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* at selected localities in Sri Lanka. **Trop. Anim. Health. Prod.**, v.24, n.1, p.9-14, 1992.
- KNOWLES, R.T., MONTROSE, M., CRAIG, T.M., WAGNER, G.G., LONG, R.F. Clinical and serological evidence of bovine babesiosis and anaplasmosis in st. Lucia. **Vet. Parasitol.**, v.10, n.4, p.307-311, 1982.
- KUTTLER, K.L., MARBLE, D.W., MATHEWS, N.J. Anaplasmosis complement fixation response in calves from anaplasmosis infected dams. **Am. J. Vet. Res.**, v.23, n.96, p.1007-1010, 1962.
- KUTTLER, K.L., ADAMS, L.G., ZARARA, J. Estudio epizootológico del *Anaplasma marginale* y del *Trypanosoma theileri* em Colombia. **Rev. Inst. Interam. Coop. Agricul.**, San José, v.5, p.127-148, 1970.
- KROON, J.F.E.M., PERIÉ, N.M., FRANSSSEN, F.F.S., UILEMBERG, G. The indirect fluorescent antibody test for bovine anaplasmosis. **Vet. Q.**, v.12, n.2, p.124-128, 1990.
- LEITE, R.C., LIMA, J.D. Fatores sanitários que influenciam a criação de bezerros. **Arq. Esc. Vet. U.F.M.G.**, v.34, n.3, p.485-492, 1982.
- LIMA, J.D. Premunção: uma alternativa para o controle da tristeza parasitária. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 7., 1991, USP, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1991. p.39-43.
- LOSOS, G.J. Anaplasmosis. In: LOSOS, G. J. **Infectious tropical diseases of domestic animals**. New York: Longman Scientific & Technical, 1986. cap.19, p.473-536.
- MADRUGA, C.R., AYCARDI, E., PUTT, N. Epidemiologia da anaplasmosis e babesiose em bovinos da região de cerrado do estado de Mato Grosso do Sul: I- Prevalência. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v.35, n.5, p.631-640, 1983.
- MADRUGA, C.R., AYCARDI, E., KESSLER, R.H., SCHENK, M.A.M., FIGUEIREDO, G.R., CURVO, J.B.E. Níveis de anticorpos anti-*Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bezerros da raça nelore, ibagé e cruzamentos de nelore. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.19, n.9, p.1163-1168, 1984.
- MADRUGA, C.R., KESSLER, R.H., GOMES, A., SCHENK, M.A.M., ANDRADE, D.F. Níveis de anticorpos e parasitemia de *Anaplasma marginale* em área enzoótica, nos bezerros da raça nelore, ibagé e cruzamentos de nelore. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.20, n.1, p.135-142, 1985.

- 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. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Colegiado do curso de Pós-graduação em Parasitologia, 1989.
- McDOWELL, R.E., ROBY, T.O., FLETCHER, J.L., FOOTE, L.E., BRANTON, C., HIGH, J.W. Impact of anaplasmosis in a dairy herd. *J. Anim. Sci.*, v.23, n.1, p.168-171, 1964.
- MOTENEGRO-JAMES, S., JAMES, M.A., RISTIC, M. Modified indirect fluorescent antibody tests for the serodiagnosis of *Anaplasma marginale* infections in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, n.11, p.2401-2403, 1985.
- NAKAMURA, Y., SHIMIZU, S., MINAMI, T., ITO, S. Enzyme-linked immunosorbent assay using solubilised antigen for detection of antibodies to *Anaplasma marginale*. *Trop. Anim. Health. Prod.*, v.20, n.4, p.259-266, 1988.
- NIELSEN, K., SMITH, P., GALL, D., ESHAIDE, S.T., WAGNER, G., DAJER, A. Development and validation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibody to *Anaplasma marginale* in bovine sera. *Vet. Parasitol.*, v.67, n.31, p.133-142, 1996.
- OBI, T.U. Survey of the incidence of anaplasmosis among nigerian zebu trade cattle. *Trop. Anim. Health. Prod.*, v.10, n.2, p.87-90, 1978.
- OTIM, C., WILSON, A.J., CAMPBELL, R.S.F. A comparative study of experimental anaplasmosis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Aust. Vet. J.*, v.56, n.6, p.262-266, 1980.
- PATARROYO, J.H.S., VILLA, O., DÍAZ-GRANADOS, H. Epidemiology of cattle anaplasmosis in Colombia. I. Prevalence and distribution of agglutinating antibodies. *Trop. Anim. Health. Prod.*, v.10, n.3, p.171-174, 1978.
- PAYNE, R.C., SCOTT, J.M. Anaplasmosis and babesiosis in El Salvador. *Trop. Anim. Health. Prod.*, v.14, n.2, p.75-80, 1982.
- PAYNE, R.C., OSORIO, O. Tick-borne diseases of cattle in Paraguai. I. Seroepidemiological studies on anaplasmosis and babesiosis. *Trop. Anim. Health. Prod.*, v.22, n.1, p.53-60, 1990.
- RIBEIRO, M.F.B. Aspectos epidemiológicos da anaplasmoze bovina em Minas Gerais e avaliação da vacina atenuada. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1979. 41p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Colegiado dos cursos de Pós-graduação, 1979.
- RIBEIRO, M.F.B., LIMA, J.D. Influence of temperature on the development of *Anaplasma marginale* in *Boophilus microplus*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.47, n.4, p.525-533, 1995a.
- RIBEIRO, M.F.B., LIMA, J.D. Morphology and development of *Anaplasma marginale* in midgut of engorged female ticks of *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.*, v.61, n.1, p.31-39, 1995b.
- RIBEIRO, M.F.B., REIS, R. Exposição natural de bezerros em área endêmica de *Anaplasma marginale* de Minas Gerais. *Arq. Esc. Vet. U.F.M.G.*, v.33, n.1, p.63-66, 1981a.
- RIBEIRO, M.F.B., REIS, R. Prevalência da anaplasmoze em quatro regiões do estado de Minas Gerais. *Arq. Esc. Vet. U.F.M.G.*, v.33, n.1, p.57-62, 1981b.
- RIBEIRO, M.F.B., LIMA, J.D., SALCEDO, J.H.P. Attempted transmission of *Anaplasma marginale* by infected *Boophilus microplus*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.48, n.4, p.397-402, 1996.
- RIBEIRO, M.F.B., PATARROYO, J.H.S., SANTOS, J.L., FARIA, J.E. Inquérito de opinião com criadores da Zona da Mata do estado de Minas Gerais. I- Alguns fatores associados com mortalidade de bezerros. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.35, n.4, p.547-556, 1983.

- RIBEIRO, M.F.B., PATARROYO, J.H.S., SANTOS, J.L., FARIA, J.E. Epidemiologia da anaplasmosose Bovina no estado de Minas Gerais. I- Prevalência de anticorpos aglutinantes e fluorescentes na Zona da Mata. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.36, n.4, p.425-432, 1984.
- RISTIC, M. Anaplasmosis. In: WEINMAN, D., RISTIC, M. *Infectious blood diseases of man and animals*. New York: Academic Press, 1968. p.473-536.
- RISTIC, M., WHITE, F.H., GREEN, J.H., SANDERS, D.A. Effect of cortisone on the mechanism of *Anaplasma marginale* immunity of experimentally infected calves. *Am. J. Vet. Res.*, v.19, n.70, p.37-43, 1958.
- ROBY, T.O., GATES, D.W., MOTT, L.O. Comparative susceptibility of calves and adult cattle to bovine anaplasmosis. *Am. J. Vet. Res.* v.22, n.91, p.982-985, 1961.
- RODGERS, S.J., SALIKI, J.T., BLOUIN, E.F., KOCAN, K.M. The development of semi-automated látex agglutination test for the detection of antibodies to *Anaplasma marginale* using a cell culture-derived antigen. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v.849, n.29, p.282-292, 1998.
- ROSS, J.P., LOHR, K.F. Transmission and persistence of colostral antibodies to *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale*. *Z. Tropenmed. Parasit.*, v.21, p.401-411, 1970.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SCHALM, O.W., JAIN, N.C., CARROL, E.J. *Veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Fabbiger, 1975. 3.ed. 807p.
- SCHILF, E.A. Bovine anaplasmosis can be controlled. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.159, n.11, p.1531-1533, 1971.
- SCHUNTNER, C.A., LEATCH, G. Radioimmunoassay for *Anaplasma marginale* antibodies in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, v.49, n.4, p.504-507, 1988.
- THOEN, C.O., BLACKBURN, B., MILLS, K., LOMME, J., HOPKINS, M.P. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies in cattle in a herd in which anaplasmosis was diagnosed. *J. Clin. Microbiol.*, v.11, n.5, p.499-502, 1980.
- TRUEBLOOD, E.S., McGUIRE, T.C., PALMER, G.H. Detection of *Anaplasma marginale* rickettsemia prior to onset of clinical signs by using an antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, v.29, n.7, p.1542-1544, 1991.
- UILEMBERG, G. Tick-borne livestock diseases and their vectors. 2. Epizootiology of tick-borne diseases. *World Anim. Rev.*, n.17, p.8-15, 1976.
- WANDURAGALA, L., RISTIC, M. Anaplasmosis. In: WOLDEHIWT, Z., RISTIC, M. *Rickettsial and Chlamydial diseases of domestic animals*. Oxford: Pergmon Press, 1993, p.65-83.
- WILSON, A.J., TRUEMAN, K.F., SPINKS, G., McSORLEY, A.F. A comparison of 4 serological tests in the detection of humoral antibodies to anaplasmosis in cattle. *Aust. Vet. J.*, v.54, n.8, p.383-386, 1978.
- WILSON, A.J., PARKER, R., TRUEMAN, K.F. Susceptibility of *Bos indicus* crossbred and *Bos taurus* cattle to *Anaplasma marginale* infection. *Trop. Anim. Health. Prod.*, v.12, n.2, p.90-94, 1980.
- WRIGHT, I.G. Immunodiagnosis and immunoprophylaxis against the haemoparasites *Babesia sp.* and *Anaplasma sp.* in domestic animals. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.*, v.9, n.2, p.345-356, 1990.
- ZAUJUG, J.I., KUITTIER, K.L. Bovine anaplasmosis : In utero transmission and the immunologic significance of ingested colostral antibodies. *Am. J. Vet. Res.*, v.45, n.3, p.440-443, 1984.