

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

João Paulo Soares Alves

**ASPECTOS BIONÔMICOS DE *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) EM
BEZERRO BUBALINO (*Bubalus bubalis*) E ANÁLISE DE FATORES DE RISCO
PARA HEMOPATÓGENOS E SEUS VETORES EM PROPRIEDADES DE
BÚFALOS NA MICRORREGIÃO DE BOM DESPACHO, MINAS GERAIS, BRASIL.**

Belo Horizonte
2025

João Paulo Soares Alves

ASPECTOS BIONÔMICOS DE *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) EM BEZERRO BUBALINO (*Bubalus bubalis*) E ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA HEMOPATÓGENOS E SEUS VETORES EM PROPRIEDADES DE BÚFALOS NA MICRORREGIÃO DE BOM DESPACHO, MINAS GERAIS, BRASIL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof. Dra. Júlia Angélica Gonçalves da Silveira

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Sobreira Rodrigues

**Belo Horizonte
2025**

A474a

Alves, João Paulo Soares, 1998 -

Aspectos bionômicos de *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) em bezerro bubalino (*Bubalus bubalis*) e análise de fatores de risco para hemopatógenos e seus vetores em propriedades de búfalos na microrregião de Bom Despacho, Minas Gerais, Brasil/ João Paulo Soares Alves.-2025.

149f: il.

Orientadora: Júlia Angélica Gonçalves da Silveira

Coorientador: Daniel Sobreira Rodrigues

Dissertação (Mestrado) apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Bibliografia: f. 112 a 136

Anexos: f. 137 a 149.

1. Bezerra - Teses - 2. Carrapato como transmissão de doenças - Teses - 3. Ciência Animal - I. Silveira, Júlia Angélica Gonçalves da - II. Rodrigues, Daniel Sobreira - III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

CDD – 636.089 26

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

JOÃO PAULO SOARES ALVES

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós Graduação em **CIÊNCIA ANIMAL**, como requisito para obtenção do grau de **MESTRE** em **CIÊNCIA ANIMAL**, área de concentração **Medicina Veterinária Preventiva**. Defesa da dissertação intitulada: "**ASPECTOS BIONÔMICOS DE Rhipicephalus microplus (Canestrini, 1888) EM BEZERRO BUBALINO (Bubalus bubalis) E ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA HEMOPATÓGENOS E SEUS VETORES EM PROPRIEDADES DE BÚFALOS NA MICRORREGIÃO DE BOM DESPACHO, MINAS GERAIS, BRASIL.**"

Aprovado(a) em 27 de fevereiro de 2025, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Julia Angelica Goncalves da Silveira - Orientador(a)

Dr.(a). Daniel Sobreira Rodrigues

Dr.(a). Jorge Elias Facury Filho

Dr.(a). Julia Gomes de Carvalho Jorge



Documento assinado eletronicamente por **Julia Angelica Goncalves da Silveira, Professora do Magistério Superior**, em 27/02/2025, às 18:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elias Jorge Facury Filho, Professor do Magistério Superior**, em 06/03/2025, às 13:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Julia Gomes de Carvalho Jorge, Usuário Externo**, em 06/03/2025, às 17:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Sobreira Rodrigues, Usuário Externo**, em 07/03/2025, às 10:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 3986826 e o código CRC C1597FF9.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Sebastião e Nângela, por todo carinho, apoio incondicional e incentivo diário. Obrigado por acreditarem em mim em todos os momentos e por serem minha base em cada passo dessa caminhada. Aos meus irmãos, Letícia e Phelipe, minha gratidão pelo companheirismo e apoio constante.

Aos professores Elias Jorge Facury Filho e Júlia Angélica Gonçalves da Silveira, por acreditarem no meu potencial, por me darem oportunidades e por compartilharem seus conhecimentos. A orientação e o apoio de vocês foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e para minha evolução acadêmica e profissional.

Às equipes que me acompanharam, como na EPAMIG, agradeço ao meu coorientador Daniel Sobreira Rodrigues, Ângela, Gabriel, Felipe e todos os outros que me deram total suporte durante minha estadia. À Clínica de Ruminantes da Escola de Veterinária da UFMG, meu agradecimento por cederem espaço e alimento para o Dentinho. À equipe LABECTO, especialmente Lorena e Gabriel, sou grato pela disponibilização da B.O.D. e pelo carinho e atenção que sempre tiveram comigo. À equipe do Laboratório PROTOVET, um agradecimento especial ao Pedro, que esteve ao meu lado desde o início, dentro e fora da faculdade. Minha gratidão também à Anisleidy, Nicolas, Júlia Carvalho, Andressa, professora Camila, Mariana, Ana Cláudia, Markus e todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram com esse trabalho. Aos companheiros de viagem Christopher, Stella, Olívia e Bruna, obrigado por estarem sempre dispostos nos momentos mais difíceis e cansativos. A parceria e o apoio de vocês tornaram tudo mais leve.

Agradeço também à minha vizinha Daniela, por seu incentivo no início da escrita desta dissertação. Suas dicas foram valiosas e fizeram toda a diferença nesse processo.

Aos proprietários das fazendas que gentilmente disponibilizaram seus animais para a realização deste estudo. Em especial, Aloysio e Rosarinha, que forneceram dois bezerros para o início do meu estudo, sem a confiança e a colaboração de vocês, este trabalho não teria sido possível.

Aos órgãos de fomento PRPq-UFMG, FAPEMIG, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e pela bolsa de mestrado, fundamental para a realização deste trabalho. À minha banca examinadora, minha gratidão por aceitarem o convite para avaliar esta pesquisa e por contribuírem com suas valiosas considerações. Por fim, um agradecimento especial a todos que, de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para que eu pudesse concluir mais essa etapa da minha vida profissional.

RESUMO

A bubalinocultura tem se consolidado como uma atividade pecuária de grande importância no Brasil, especialmente devido à adaptabilidade dos búfalos (*Bubalus bubalis*) às condições ambientais adversas. Apesar dessas vantagens, a expansão da criação enfrenta desafios sanitários significativos, principalmente relacionados à infestação por ectoparasitos e à transmissão de hemopatógenos, fatores que impactam a produtividade e o bem-estar animal. Esta dissertação foi estruturada em dois capítulos para compreender a relação entre ectoparasitos, hemopatógenos e seus fatores de risco em bezerros bubalinos na microrregião de Bom Despacho, Minas Gerais. O Capítulo 1 aborda infestações natural e experimental de *Rhipicephalus microplus* em bezerros bubalinos, avaliando a capacidade do carrapato de completar seu ciclo de vida e suas consequências. Os resultados indicaram que ele completou seu ciclo por três gerações consecutivas em um bezerro (237), que apresentou linfonodomegalia, alopecia, diarreia, dermatofitose, prurido intenso e pápulas, além de redução na oviposição e na recuperação das teleóginas ao longo das gerações. Outro bezerro (249) teve complicações graves durante a infestação natural, apresentando linfonodomegalia, prostração, inapetência, mucosas hipocoradas, desidratação e alopecia, indo a óbito por anemia severa. Esse animal não apresentou DNA de hemopatógenos transmitidos por carrapatos. O Capítulo 2 trata de um estudo epidemiológico sobre hemopatógenos e seus vetores em bezerros bubalinos de 0 a 12 meses na microrregião de Bom Despacho (MG). Foram detectados hemopatógenos dos gêneros *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. (monócitos), *Mycoplasma* sp. (hemotrópico) e *Babesia* spp., mas não *Theileira* spp. A idade dos animais, o uso de abamectina e a presença de machos jovens foram fatores de risco para soropositividade de *A. marginale*. Para *B. bovis*, os fatores de risco foram: alta infestação por carrapatos, uso de abamectina, presença de bovinos e infestações em época de chuva. Para *B. bigemina*, identificaram-se alta infestação de carrapatos, tratamentos injetáveis, intervalos prolongados entre os tratamentos e idade dos animais. Os carrapatos *R. microplus* foram encontrados em 82% (14/17) das propriedades, e foi confirmada a presença do piolho *Haematopinus tuberculatus*. Assim, este estudo demonstra que *R. microplus* completa seu ciclo de vida em *B. bubalis* por pelo menos três gerações e que bezerros bubalinos de 0 a 12 meses na microrregião de Bom Despacho (MG) são parasitados não apenas por esses carrapatos, mas também por piolhos *H. tuberculatus* e pelos hemopatógenos *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp., *Mycoplasma* sp. e *Babesia* spp.

Palavras-chaves: Bubalinocultura; Ectoparasitos; Doenças transmitidas por carrapatos.

ABSTRACT

Buffalo farming has become an important livestock activity in Brazil, especially due to the adaptability of buffaloes (*Bubalus bubalis*) to adverse environmental conditions. Despite these advantages, the expansion of buffalo farming faces significant health challenges, mainly related to ectoparasite infestation and the transmission of hemopathogens, factors that impact productivity and animal welfare. This dissertation is structured in two chapters to understand the relationship between ectoparasites, hemopathogens, and risk factors in buffalo calves in the microregion of Bom Despacho, Minas Gerais. Chapter 1 addresses natural and experimental infestations of *Rhipicephalus microplus* in buffalo calves, assessing the tick's ability to complete its life cycle and its consequences. The results indicated that the tick completed its cycle for three consecutive generations in one calf (237), which showed lymphadenomegaly, alopecia, diarrhea, dermatophytosis, intense pruritus, and papules, in addition to a reduction in oviposition and female recovery over generations. Another calf (249) experienced severe complications during natural infestation, presenting lymphadenomegaly, prostration, lack of appetite, pale mucous membranes, dehydration, and alopecia, ultimately dying from severe anemia. This animal did not present DNA of tick-borne hemopathogens. Chapter 2 presents an epidemiological study on hemopathogens and their vectors in buffalo calves aged 0 to 12 months in the Bom Despacho (MG) microregion. Hemopathogens of the genera *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. (monocytes), *Mycoplasma* sp. (hemotropic), and *Babesia* spp. were detected, but *Theileria* spp. was not found. The animals' age, the use of abamectin, and the presence of young males were risk factors for *A. marginale* seropositivity. For *B. bovis*, the risk factors were high tick infestation, abamectin use, the presence of cattle, and infestations during the rainy season. For *B. bigemina*, high tick infestation, injectable treatments, prolonged treatment intervals, and animal age were identified as risk factors. Ticks of the species *R. microplus* were found in 82% (14/17) of the properties, and the presence of the louse *Haematopinus tuberculatus* was also confirmed. Thus, this study demonstrates that *R. microplus* completes its life cycle in *B. bubalis* for at least three generations and that buffalo calves aged 0 to 12 months in the Bom Despacho (MG) microregion are parasitized not only by these ticks but also by the louse *H. tuberculatus* and the hemopathogens *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp., *Mycoplasma* sp., and *Babesia* spp.

Key-words: Buffalo farming; Ectoparasites; Tick-borne diseases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema de recuperação de larvas a cada infestação do animal 237.	47
Quadro 1 – Alterações clínicas observadas em cada animal por infestação.	49
Figura 2 – Infestação natural em bezerro 249.	48
Figura 3 – Mucosas pálidas e desidratação (avaliados no dia 05/06/2023). (a) Mucosa oral, (b) Mucosa ocular.	48
Figura 4 – Bezerro 249 após remoção manual de teleóginas no dia 05/06/2023, áreas com alopecia.	49
Figura 5 – Teleóginas recuperadas durante infestação natural do bezerro bubalino 237 desde o 1º ao 13º dia de desprendimento.	50
Figura 6 – A e B: Câmaras de alimentação em bezerro 237 durante a primeira infestação experimental. C e D: Áreas de alopecia características de infecção fúngica (dermatofitose).	51
Figura 7 – A: câmaras de alimentação de ambos os lados do animal 237 durante a segunda infestação experimental. B: momento do início da segunda infestação experimental. C: câmaras de alimentação do lado esquerdo do animal 237.	52
Figura 8 – A e B: pápulas no couro provenientes da segunda infestação experimental no bezerro 237.	53
Figura 9 – Mapa da microrregião de Bom Despacho, Minas Gerais, com a divisão de seus 12 municípios. Os municípios amostrados estão acompanhados pelo número de propriedades visitadas (n).	72
Quadro 2 – Estratificação das amostras coletadas por propriedade e data de visita.	73
Quadro 3 – Sequência de iniciadores utilizados para identificação dos agentes em estudo.	76
Figura 10 – Análises sorológicas utilizando Reação de Imunofluorescência Indireta - RIFI para <i>Anaplasma marginale</i> , <i>Babesia bovis</i> e <i>B. bigemina</i> em 251 bezerros bubalinos de até 12 meses de vida, provenientes de propriedades da microrregião de Bom Despacho (MG).	80
Figura 11 – Análises moleculares utilizando PCR <i>Anaplasma marginale</i> , <i>Ehrlichia</i> sp., <i>Mycoplasma</i> sp., <i>Babesia bovis</i> e <i>B. bigemina</i> em 251 bezerros	

bubalinos de até 12 meses de vida, provenientes de propriedades da microrregião de Bom Despacho (MG). 83

Figura 12 – Prevalência molecular (nPCR) e sorológica (RIFI) de *A. marginale* (A); *B. bovis* (B) e *B. bigemina* (B) de 251 bezerros bubalinos de até 12 meses de idade em diferentes rebanhos da microrregião de Bom Despacho (MG). 84

Figura 13 – A: Carrapatos fêmeas da espécie *Rhipicephalus microplus* coletados de bezerros bubalinos provenientes de propriedades da microrregião de Bom Despacho (MG). 85

Figura 14 – Piolhos da espécie *Haematopinus tuberculatus* coletados de bezerros bubalinos provenientes de propriedades da microrregião de Bom Despacho (MG). 85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação de parâmetros reprodutivos no período parasitário de cada infestação experimental feita com *R. microplus* em bezerro bubalino (237). 54

Tabela 2 - Comparação de parâmetros reprodutivos no período não parasitário de cada infestação experimental feita com *R. microplus* em bezerro bubalino (237). 54

Tabela 3 – Comparação de parâmetros reprodutivos medidos em carrapatos fêmeas ingurgitados de *R. microplus* infestando um búfalo neste experimento e em Benitez *et al.*, (2012). 55

Tabela 4 – Frequência de positividade para *A. marginale* em esfregaço sanguíneo e percentual de rickettsemia por propriedade avaliada. 79

Tabela 5 – Resultados sorológicos (RIFI) e moleculares (PCR) de bezerros bubalinos com até 12 meses de idade, provenientes de diferentes propriedades situadas na microrregião de Bom Despacho (MG). 82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	Microlitro
ABCB	Associação Brasileira de Criadores de Búfalos
B.O.D	<i>Biochemical oxygen demand</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
cPCR	<i>Conventional Polymerase Chain Reaction</i>
DMVP	Departamento de Medicina Veterinária Preventiva
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked-immunosorbent assay</i>
EPAMIG	Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
ECRFI	Taxa de Eficiência de Conversão Reprodutiva da Fêmea Ingurgitada
EV	Escola de Veterinária
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FITC	<i>Fluorescein Isothiocyanate</i>
g	Gramas
GAPDH	<i>Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer</i>
Kg	Quilogramas
LABIOMIC	Laboratório de Biologia Molecular e Micologia
LAMP	<i>Loop mediated isothermal amplification</i>
MG	Minas Gerais
mg	Miligramas
ml	Mililitro
m	Metros
MPSP	<i>Major Piroplasm Surface Protein</i>
msp1α	<i>Major Surface Protein 1 alpha</i>
msp4	<i>Major Surface Protein 4</i>

msp5	<i>Major Surface Protein 5</i>
nPCR	<i>Nested Polymerase Chain Reaction</i>
OR	<i>Odds ratio</i>
p.i.	Pós-infecção
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PF	Peso de fêmeas
PO	Peso de ovos
PROTOVET	Protozoologia Veterinária
qPCR	<i>Quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
RT	Taxa de recuperação de teleóginas
TAE	<i>Tris-Acetate-EDTA</i>
TPB	Tristeza Parasitária Bovina
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UR	Umidade Relativa
VG	Volume Globular

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Objetivo geral.....	14
2.2. Objetivos específicos.....	15
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1. Bubalinos.....	15
3.2. Ectoparasitos em búfalos.....	17
3.2.1. Piolhos sugadores.....	17
3.2.2. Pulgas.....	18
3.2.3. Carrapatos.....	19
3.3. Hemopatógenos transmitidos por carrapatos em búfalos.....	21
3.3.1. <i>Anaplasma</i>	22
3.3.2. <i>Ehrlichia</i>	24
3.3.3. <i>Mycoplasma</i>	26
3.3.4. Piroplasmas.....	29
3.4. Fatores de risco para Tristeza Parasitária Bovina e seus vetores.....	34
3.5. Imunidade do hospedeiro frente ao carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i>	37
4. CAPÍTULO 1.....	40
4.1. Resumo.....	40
4.2. Abstract.....	40
4.3. Introdução.....	41
4.4. Material e Métodos.....	43
4.4.1. Considerações éticas.....	43
4.4.2. Animais de estudo.....	43
4.4.3. Local de estudo.....	44
4.4.4. Coleta e análise de carrapatos.....	44
4.4.5. Avaliação clínica.....	46
4.4.6. Análises laboratoriais.....	46
4.4.7. Análise estatística.....	47
4.5. Resultados.....	47
4.5.1. Infestação natural.....	47
4.5.2. Infestações experimentais.....	50
4.6. Discussão.....	55

4.7.	Conclusão	60
4.8.	Referências	61
5.	CAPÍTULO 2	68
5.1.	Resumo	68
5.2.	Abstract	68
5.3.	Introdução	69
5.4.	Material e Métodos	70
5.4.1.	Considerações éticas	70
5.4.2.	Local de estudo	71
5.4.3.	Questionário	72
5.4.4.	Coleta e análise de material	73
5.4.5.	Análise estatística	77
5.5.	Resultados	78
5.5.1.	Volume Globular	78
5.5.2.	Esfregaço sanguíneo	78
5.5.3.	Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)	79
5.5.4.	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	80
5.5.5.	Ectoparasitos	85
5.5.6.	Fatores de risco	86
5.6.	Discussão	87
5.7.	Conclusão	99
5.8.	Referências:	100
6.	CONSIDERAÇÕES GERAIS	110
7.	CONCLUSÕES	111
	REFERÊNCIAS:	112
	ANEXOS:	137

1. INTRODUÇÃO

A bubalinocultura tem se consolidado como uma atividade pecuária de crescente importância no Brasil, especialmente devido à adaptabilidade e rusticidade dos búfalos (*Bubalus bubalis*), além de seu potencial produtivo para carne e leite (Minervino *et al.*, 2020; FAOSTAT, 2022). O rebanho bubalino brasileiro ultrapassa 1,7 milhão de cabeças, com maior concentração na região Norte, particularmente no estado do Pará, seguido pelas regiões Sudeste e Nordeste (IBGE, 2023). Apesar das vantagens produtivas, a expansão da bubalinocultura traz desafios sanitários, especialmente em relação aos ectoparasitos e hemopatógenos, que podem impactar a saúde e o desempenho desses animais (Oliveira *et al.*, 2005; Villanueva *et al.*, 2018).

Os ectoparasitos, incluindo piolhos, pulgas e carrapatos, são responsáveis por diversos prejuízos na produção animal. O piolho *Haematopinus tuberculatus* é um dos ectoparasitos mais prevalentes em búfalos, embora estudos apresentem evidências da detecção de alguns microrganismos infecciosos, o seu papel como vetor ainda não é totalmente esclarecido (Da Silva *et al.*, 2013a; Neglia *et al.*, 2013; Hernández-Velasco *et al.*, 2020). A pulga *Ctenocephalides felis felis*, reconhecida como um importante vetor de patógenos zoonóticos, também tem sido identificada em búfalos, sugerindo seu potencial impacto na sanidade desses animais (Singh *et al.*, 2011). Além disso, os carrapatos, como *Rhipicephalus microplus*, *Amblyomma* spp. e *Dermacentor nitens*, desempenham um papel crítico por causarem espoliação sanguínea e pela transmissão de hemopatógenos. *Rhipicephalus microplus* pode transmitir *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*, que podem levar a perdas significativas na produção (Gomes, 2007; Uilenberg, 2006; Obregón *et al.*, 2019).

No Brasil, os hemopatógenos transmitidos por carrapatos de maior relevância para a bubalinocultura são *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*, agentes etiológicos da Tristeza Parasitária Bovina (TPB). Essa enfermidade pode causar anemia grave, febre, icterícia e, em casos mais severos, levar à morte dos animais (Kocan *et al.*, 2010; Ruybal *et al.*, 2009; Jacob *et al.*, 2020). Embora os búfalos sejam considerados mais resistentes que os bovinos, estudos recentes indicam a presença desses patógenos nesses animais, geralmente de forma subclínica, evidenciando a necessidade de mais pesquisas sobre sua epidemiologia e impacto na espécie hospedeira (Silva *et al.*, 2014a; Lima *et al.*, 2019; Obregón *et al.*, 2019). O diagnóstico

da infecção pode ser realizado por esfregaço sanguíneo, sorologia e técnicas moleculares, sendo a PCR uma das metodologias mais sensíveis para detecção e caracterização do patógeno (Dreher *et al.*, 2005; Kocan *et al.*, 2010; Parodi *et al.*, 2021).

Além desses agentes, outras espécies de hemopatógenos já foram detectadas em búfalos, incluindo *Mycoplasma* spp. (hemotrópico) (Erol *et al.*, 2023), *Theileria* sp. (Araújo, 2022), *Trypanosoma* sp. (Garcia *et al.*, 2020; Desquesnes *et al.*, 2013) e *Anaplasma phagocytophilum* (Sahin *et al.*, 2023). No entanto, o conhecimento sobre quadros clínicos e epidemiologia desses patógenos ainda é limitado, reforçando a importância de estudos adicionais para compreender seu impacto na sanidade dos rebanhos bubalinos.

Diante da relevância dos ectoparasitos e hemopatógenos para a saúde dos búfalos e da necessidade de um melhor entendimento sobre sua epidemiologia e controle, esta dissertação está estruturada em dois capítulos, escritos no formato de artigos científicos. O Capítulo 1 investiga o ciclo de vida de *R. microplus* em búfalos em infestação experimental, analisando sua dinâmica e possíveis associações com hemopatógenos. Já o Capítulo 2 concentra-se na detecção de hemopatógenos e seus vetores em búfalos em condições naturais, avaliando os fatores de risco envolvidos na região estudada.

Os resultados obtidos nesta dissertação contribuirão para ampliar o conhecimento sobre a sanidade dos búfalos no Brasil, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle parasitário e manejo sanitário, fundamentais para o crescimento sustentável da bubalinocultura no país.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Analisar aspectos bionômicos do carrapato *R. microplus* em um bezerro bubalino experimentalmente infestado, após exposição prévia natural e analisar a ocorrência de ectoparasitos, hemopatógenos e seus fatores em propriedades de búfalos na microrregião de Bom Despacho, Minas Gerais, Brasil.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar período parasitário de larvas, ninfas e adultos, peso de fêmeas ingurgitadas e oviposições, e eficiência reprodutiva de *R. microplus* em bezerro bubalino experimentalmente infestado;
- Descrever as consequências do parasitismo por *R. microplus* em búfalos;
- Avaliar fatores de risco para hemopatógenos (*A. marginale*, *Babesia* spp.) e seus vetores em propriedades de búfalos situadas na microrregião de Bom Despacho – MG;
- Identificar hemopatógenos em bezerros bubalinos de diferentes propriedades por meio de métodos parasitológicos diretos e moleculares, incluindo *A. marginale*, *Ehrlichia* sp. (monócitos), *Mycoplasma* sp. (hemotrópico), *B. bovis*, *B. bigemina* e *Theileria* sp.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Bubalinos

Pertencente à família Bovidae, a espécie *Bubalus bubalis* (Linnaeus, 1758), popularmente conhecida como “búfalo d’água”, é originária da Ásia, com destaque para países como Índia, Paquistão, Tailândia, China e Vietnã. Esses animais foram posteriormente introduzidos em outros continentes devido à sua notável adaptabilidade e rusticidade. Atualmente, os búfalos estão amplamente distribuídos, incluindo o continente americano (Minervino *et al.*, 2020). A maior parte da população mundial de búfalos ainda está concentrada na Ásia, seguida pela África, América, Europa e Oceania, totalizando mais de 202 milhões de cabeças em todo o mundo (Faostat, 2022).

A América Latina lidera o crescimento global na produção de búfalos, destacando-se como a região com maior expansão nesse setor. Os países com os maiores rebanhos de búfalos, em ordem decrescente, são Brasil, Venezuela, Colômbia, Argentina, Cuba e México (Minervino *et al.*, 2020). No Brasil, a bubalinocultura é uma atividade relativamente recente, tendo início em 1890, com a chegada de animais da raça Carabao, provenientes da Europa, do Caribe e da Ásia, que foram instalados na Ilha de Marajó, no estado do Pará. Em 1920, criadores de Minas Gerais importaram búfalos da Índia e da Itália, dando origem à maior parte dos

rebanhos da região Centro-Sul, especialmente em Minas Gerais e São Paulo. Posteriormente, em 1945, animais da raça Mediterrâneo foram trazidos da Itália, e, em 1961, novas importações introduziram as raças Murrah e Jafarabadi. A partir dessas importações, o cruzamento entre as raças Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo começou a ser amplamente difundido no país, consolidando a expansão da bubalinocultura brasileira (Bernardes, 1997; Lourenço Júnior & Garcia, 2008).

No Brasil, a Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (ABCB) reconhece quatro raças com padrão definido e registro genealógico: Murrah, Mediterrâneo e Jafarabadi, classificadas como búfalos de rio (ou búfalos pretos), e Carabao, uma raça de búfalo de pântano também conhecida como búfalo rosilho (Kierstein *et al.*, 2004; Bernardes, 2007; ABCB, 2021). Em 1989, criadores da Bahia, Rio Grande do Sul e São Paulo importaram oito búfalos da raça Mediterrâneo, vindos da Itália, promovendo uma maior difusão dessa raça no país.

Atualmente, os búfalos d'água estão presentes em todos os estados brasileiros, consolidando o conceito de que essa espécie é altamente resiliente a diferentes ambientes e manejos (Bernardes, 2007; Silva *et al.*, 2014a). De acordo com o último censo (2023) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil possui um rebanho de cerca de um 1.700.000 bubalinos, com maior concentração na região norte, destacando-se o estado do Pará que abriga 683.604 cabeças. Em seguida, destacam-se as regiões Sudeste, com 218 mil cabeças, e Nordeste, com 138 mil. Na região Sudeste, os maiores efetivos estão nos estados de São Paulo (119.030) e Minas Gerais (85.418).

O crescimento do rebanho bubalino no Brasil, impulsionado pela crescente demanda por produtos pecuários, levanta preocupações relacionadas ao manejo sanitário dessa espécie. Embora os búfalos compartilhem semelhanças genéticas com os bovinos, diferenças importantes, incluindo genes associados à imunidade e resistência a agentes patogênicos, são reconhecidas (Moaeen-Ud-Din & Bilal, 2015). Apesar de serem considerados mais resistentes a enfermidades (Kandeeppan *et al.*, 2013), os dados disponíveis sobre os aspectos clínicos, patológicos e epidemiológicos dessa espécie no Brasil ainda são limitados (Silva *et al.*, 2014a).

A convivência frequente entre búfalos, bovinos e outros animais domésticos, assim como o contato com a fauna silvestre em diferentes ecossistemas, facilita a transmissão de agentes infecciosos entre espécies. Isso inclui doenças zoonóticas que representam um desafio significativo à saúde pública (Oliveira *et al.*, 2006; Motta-

Giraldo *et al.*, 2014; Villanueva *et al.*, 2018). Muitas dessas enfermidades, causadas por vírus, bactérias, fungos e protozoários, geram impactos econômicos relevantes. Além disso, o comportamento característico dos búfalos, como o hábito de chafurdar em água barrenta, pode aumentar sua predisposição a infecções (Villanueva *et al.*, 2018).

A globalização do comércio de gado, incluindo a importação e exportação de animais, também contribui para a disseminação de patógenos entre regiões e países. Nesse contexto, a convivência dos búfalos com outras espécies e o compartilhamento de ambientes podem criar desequilíbrios sanitários e elevar os riscos à saúde animal e humana. Isso destaca a necessidade de um manejo integrado de saúde e doença, abordando de forma ampla as interações entre espécies e ecossistemas (Domínguez-Aguilar *et al.*, 2013).

3.2. Ectoparasitos em búfalos

3.2.1. Piolhos sugadores

Os piolhos são insetos sem asas que vivem como ectoparasitos permanentes em mamíferos. Apresentam peças bucais adaptadas para sugar sangue e fluidos teciduais, não possuem olhos e apresentam placas paratergais distintas no corpo. Seu ciclo de vida ocorre inteiramente no hospedeiro, tornando-os altamente dependentes para alimentação e reprodução (Soulsby, 1965). Eles podem infestar uma ampla variedade de animais e a sua infestação pode causar diversos problemas incluindo irritação, inquietação, danos à pele e aos pelos, anemia devido à perda de sangue e, em casos graves, pode levar à morte. Além disso, os animais infestados podem apresentar redução na alimentação e na produtividade, como a queda na produção de leite. As infestações são mais prevalentes no inverno, quando os animais se aglomeram para se proteger do frio, facilitando a transmissão entre eles (Lancaster & Meisch, 1986).

A família Haematopinidae, de gênero único, contém 21 espécies descritas, que são importantes ectoparasitos de animais domésticos, causando perdas econômicas significativas (Durden & Musser, 1994; Kim *et al.*, 2019). Entre eles, *Haematopinus tuberculatus* é a principal espécie relatada em búfalos, apresentando importância significativa por ser permanente e altamente prevalente em diferentes regiões do mundo, incluindo Ásia, Europa, África e América do Sul (Bastianetto *et al.*, 2002; Meleney & Kim, 1974a, b). Embora existam estudos sobre *H. tuberculatus* e sua

associação com patógenos, incluindo *Brucella abortus*, *Bartonella* spp. e *A. marginale* (Da Silva *et al.*, 2013a; Neglia *et al.*, 2013; Promrangsee *et al.*, 2019; Hernández-Velasco *et al.*, 2020), o papel desse ectoparasito na transmissão desses microrganismos ainda não está totalmente elucidado.

Apesar do tratamento de animais infestados por piolhos muitas vezes não seja considerado uma prioridade, existem inseticidas comerciais disponíveis que podem ser utilizados para o seu controle eficaz. Produtos desenvolvidos originalmente para o manejo de outros ectoparasitos, têm sido amplamente empregados para combater infestações por piolhos, incluindo *H. tuberculatus* em búfalos (Levot, 2000; Veneziano *et al.*, 2004). Entre as opções comerciais, as lactonas macrocíclicas, como ivermectina, abamectina, doramectina e especialmente eprinomectina, têm mostrado eficiência no controle de *H. tuberculatus* (Bastianetto *et al.*, 2002; Veneziano *et al.*, 2004).

Apesar dessas opções, o uso indiscriminado de produtos químicos, especialmente em doses inadequadas, tem contribuído para o desenvolvimento de resistência em ectoparasitos. Isso é particularmente preocupante em relação aos piretróides sintéticos, como deltametrina, cipermetrina e flumetrina, que há décadas são amplamente utilizados no manejo de ectoparasitos em diversas regiões (Sharma *et al.*, 2012). Um estudo realizado por Shakya *et al.* (2022) confirmou a resistência de *H. tuberculatus* contra a deltametrina, cipermetrina e flumetrina, fato que gera alerta para a necessidade de estratégias mais responsáveis e integradas no controle desses ectoparasitos.

3.2.2. Pulgas

As pulgas da família Pulicidae, pertencentes à ordem Siphonaptera possuem adaptações morfológicas especializadas para o parasitismo, como pernas saltatórias, corpo lateralmente plano e cutícula esclerotizada, que garantem eficiência na locomoção e proteção (Moore *et al.*, 2024). Os espécimes adultos são hematófagos estritos e generalistas, parasitando principalmente mamíferos, mas também aves (Whiting *et al.*, 2008; Durden & Hinkle, 2019).

Ctenocephalides felis felis, uma espécie cosmopolita, é de grande importância médica e econômica, com uma ampla gama de hospedeiros, incluindo gatos, cães, bovinos, bubalinos e mamíferos selvagens (Mota da Costa *et al.*, 2019; Linardi & Santos, 2012; Paz *et al.*, 2022; Riner *et al.*, 2018; Rust, 2017; Singh *et al.*, 2011). Ela

é associada à prurido e irritabilidade cutânea no hospedeiro, assim como transmissão de microrganismos patogênicos como *Rickettsia felis*, *R. typhi*, *Bartonella henselae* e potencialmente *Yersinia pestis* (Caravedo Martinez *et al.*, 2021; Macaluso *et al.*, 2008; Rajamannar *et al.*, 2022; Youssefi *et al.*, 2014). Além disso, atua como hospedeiro intermediário para o cestódeo *Dipylidium caninum* (Elston & Do, 2010).

Singh *et al.* (2011) relataram infestações moderadas de *C. felis felis* em bezerros de búfalos, concentradas nas regiões do peito, abdômen, axilas e virilha. A origem das pulgas foi atribuída à presença de gatos na propriedade, embora não tenha sido possível capturá-los para avaliação. Este foi o primeiro relato de infestação por *C. felis felis* em búfalos no mundo, evidenciando a relevância dessa espécie também como ectoparasito de animais de produção. Além disso, os autores sugerem que a infestação pode estar relacionada ao desenvolvimento de resistência a piretroides, como a deltametrina, utilizada no controle de ectoparasitos na propriedade. Esse achado reforça os desafios crescentes no controle de ectoparasitos, agravados pelo uso inadequado de produtos, destacando a necessidade de estratégias mais eficientes e sustentáveis.

3.2.3. Carrapatos

Os carrapatos são ectoparasitos de ampla distribuição mundial que parasitam uma grande variedade de animais domésticos, selvagens e até seres humanos (Guglielmone *et al.*, 2014). Esses artrópodes causam impactos diretos e indiretos na saúde humana e animal devido à sua alimentação hematófaga e à transmissão de microrganismos patogênicos (Borchers *et al.*, 2015). Reconhecidos como os ectoparasitos responsáveis pelas maiores perdas econômicas na produção pecuária mundial (FAO, 2022), eles representam uma preocupação significativa para diversas áreas, incluindo a saúde pública e a pecuária.

Devido à capacidade desses parasitos de infestarem todas as classes de vertebrados terrestres, como mamíferos, aves, répteis e anfíbios (Sonenshine & Roe, 2013), ainda existem muitas lacunas no conhecimento sobre o seu desenvolvimento em algumas espécies hospedeiras. Além disso, o seu manejo e dos patógenos que transmitem permanecem sendo um grande desafio até os dias de hoje (Ali *et al.*, 2022).

No Brasil, o registro de espécies de carrapatos em búfalos ainda é relativamente limitado, abrangendo algumas espécies de importância veterinária,

como *Amblyomma cajennense* sensu stricto, *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens* e *Rhipicephalus microplus* (Corrêa *et al.*, 2012; Nava *et al.*, 2014; Batista *et al.*, 2018). Embora os búfalos sejam parasitados por carrapatos, a intensidade de infestação costuma ser menor em comparação com o que ocorre em bovinos (Nithikathkul *et al.*, 2002). Mas, ainda assim, a sua presença gera custos adicionais significativos na produção pecuária, devido ao aumento no uso de acaricidas, à necessidade de maior mão de obra e ao investimento em equipamentos para controle (Jongejan & Uilenberg, 2004).

A espécie *R. microplus*, conhecida como “carrapato-do-boi”, é reconhecida como a mais predominante em búfalos no mundo, conforme demonstrado por diversos estudos (Rocha *et al.*, 1969; Miranpuri, 1988; Gomes, 2007; Obregón *et al.*, 2010; Corrêa *et al.*, 2012). Acredita-se que essa espécie tenha se originado na Índia (Hoogstraal, 1985), sendo introduzida nas Américas entre os séculos XVI e XVII, possivelmente por meio de bovinos trazidos da Índia ou da África (Barré & Uilenberg, 2010). Atualmente, predomina em regiões tropicais e subtropicais, cujas condições climáticas favorecem sua sobrevivência e proliferação (Estrada-Peña & de la Fuente, 2014). Essa espécie desempenha um papel significativo na transmissão de agentes patogênicos. Em bovinos e bubalinos, é o principal vetor biológico de *B. bovis*, *B. bigemina* e *A. marginale*, responsáveis pela Tristeza Parasitária Bovina (Uilenberg, 2006; Obregón *et al.*, 2018, 2019). Em equinos, é um dos responsáveis pela transmissão de *Theileria equi*, causador da Piroplasmose Equina (Scoles & Ueti, 2015). No Brasil, os seus impactos econômicos são expressivos, com perdas anuais estimadas em 3,24 milhões de dólares, devido à redução na produtividade leiteira e no ganho de peso dos animais infestados (Grisi *et al.*, 2014).

O gênero *Amblyomma* é um dos mais representativos entre os carrapatos no território brasileiro, composto por 33 espécies, algumas de importância médica e veterinária (Nava *et al.*, 2017; Gianizella *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2019). Dentro deste gênero, existe um complexo de *A. cajennense* composto por seis espécies (Nava *et al.*, 2014), entre as quais foram identificadas em bubalinos *A. cajennense* sensu stricto (s.s.) e *A. sculptum* (Corrêa *et al.*, 2012; Nava *et al.*, 2014; Batista *et al.*, 2018). Estudos indicam que *A. cajennense* s.s. é mais prevalente na região norte do país, especialmente no bioma Amazônia, enquanto *A. sculptum* predomina no bioma Cerrado (Martins *et al.*, 2016; Costa *et al.*, 2017). Além disso, *A. sculptum* é considerado o principal vetor de *Rickettsia rickettsii*, o principal agente etiológico da

Febre Maculosa Brasileira, particularmente na região sudeste do país (Krawczak *et al.*, 2014; Mota da Costa *et al.*, 2019).

A espécie *Dermacentor nitens* é conhecida por parasitar principalmente orelhas, divertículo nasal, região perineal e cauda de equinos, mas também pode ser encontrada em outros mamíferos (Borges *et al.*, 2000; Corrêa *et al.*, 2012). Sua relevância está associada à transmissão da piroplasmose equina causada pelo protozoário intraeritrocítico *Babesia caballi*. Esse agente pode apresentar grande impacto econômico, pois restringe a movimentação internacional de equinos, especialmente para países livres dessa enfermidade, seja para importação ou participação em eventos esportivos (Labruna *et al.*, 2001). Até o momento, não há evidências científicas de que transmita patógenos para bubalinos.

Em escala global, os custos relacionados às infestações por carrapatos e aos agentes transmitidos por eles são estimados entre 13,9 e 18,7 bilhões de dólares anualmente (de Castro, 1997). O controle desses parasitos tem sido tradicionalmente, realizado por meio do uso de acaricidas químicos, cuja eficácia no manejo de infestações foi comprovada em diversos estudos a campo (Muraguri *et al.*, 2003; Murigu *et al.*, 2016; Nonga *et al.*, 2012). No entanto, o uso contínuo e inadequado desses produtos tem levado à resistência dos carrapatos aos acaricidas, um problema cada vez mais relatado (Githaka *et al.*, 2022; Vudriko *et al.*, 2016; Agwunobi *et al.*, 2021; Obaid *et al.*, 2022). Além disso, há preocupações crescentes em relação à contaminação ambiental e à presença de resíduos químicos em produtos de origem animal, como leite e carne, decorrentes do uso intensivo dessas substâncias (De Meneghi *et al.*, 2016; Vudriko *et al.*, 2018).

3.3. Hemopatógenos transmitidos por carrapatos em búfalos

Os hemopatógenos transmitidos por carrapatos representam uma ameaça significativa à saúde animal em todo o mundo, impactando diretamente os meios de subsistência de seus proprietários (Amira *et al.*, 2018). Eles são responsáveis por grandes perdas econômicas nos rebanhos, prevalentemente em regiões tropicais. Entre os principais agentes envolvidos, destacam-se as bactérias *Anaplasma*, *Ehrlichia* e *Mycoplasma*, bem como os protozoários *Babesia* e *Theileria* (Bock *et al.*, 2004; Kocan *et al.*, 2010). A diversidade desses patógenos resulta em uma ampla gama de manifestações clínicas, com os sinais mais comuns sendo anemia, fraqueza,

diminuição do consumo e da produção, podendo culminar na morte do animal (Taylor *et al.*, 2015).

3.3.1. *Anaplasma*

Em relação às bactérias do gênero *Anaplasma*, sabe-se que são patógenos intracelulares obrigatórios que têm a capacidade de invadir e se replicar em dois ambientes distintos: as células hematopoiéticas de hospedeiros mamíferos e as células do intestino médio e da glândula salivar de artrópodes vetores (Ramabu *et al.*, 2011). Em ruminantes, as espécies de *Anaplasma* são os patógenos transmitidos por carrapatos mais prevalentes, com distribuição endêmica em seis continentes, especialmente em áreas tropicais e subtropicais (Ruybal *et al.*, 2009). Entre essas espécies, *A. marginale* é uma das mais perigosas, responsável pela Anaplasmosse bovina, que causa altos índices de morbidade e mortalidade em ruminantes, além de perdas econômicas significativas (Kocan *et al.*, 2010).

A transmissão biológica de *A. marginale* ocorre por meio de carrapatos. Cerca de 20 espécies de carrapatos dos gêneros *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Dermacentor*, *Hyalomma* e *Amblyomma* foram identificadas como potenciais vetores de *A. marginale* (Gaido *et al.*, 1995; Potgieter & Stoltz, 2004; Kocan *et al.*, 2008), embora a capacidade real de transmissão tenha sido demonstrada apenas para algumas espécies. A transmissão mecânica também pode ocorrer por carrapatos, dípteros hematófagos e fômites contaminados com sangue infectado (Foil, 1989; Kocan *et al.*, 2008). Embora a transmissão transplacentária seja possível, estudos vêm demonstrando importante frequência em algumas situações, mas são necessárias mais pesquisas para analisar sua importância do ponto de vista epidemiológico (Andrade *et al.*, 2024).

De acordo com Kocan *et al.* (1992) a infecção ocorre quando o carrapato se alimenta do sangue de animais infectados. A rickettsia se desenvolve nas células intestinais e se espalha por outros tecidos, incluindo a glândula salivar, que é a principal fonte de transmissão para os hospedeiros durante a alimentação. O período de incubação varia de duas a quatro semanas, dependendo da sensibilidade do hospedeiro e da quantidade de parasitos inoculados (Marques, 2003).

Os sinais clínicos da anaplasmosse bovina incluem anemia grave, fraqueza, desidratação, febre e icterícia (Taylor *et al.*, 2010). A febre está associada ao aparecimento do agente na circulação sanguínea, o que é considerado o primeiro sinal

clínico da doença, podendo ser diagnosticado por esfregaço sanguíneo (Mahoney, 1977). A anemia é mediada por anticorpos, que causam a hemólise extravascular ao danificar as membranas dos eritrócitos parasitados (Stockham & Scott, 2011). Após a infecção, o número de eritrócitos infectados aumenta gradativamente, sendo fagocitados por macrófagos, o que pode incluir células não infectadas, aumentando o risco de morte dos animais afetados (Kocan *et al.*, 2003).

A gravidade da anaplasmosose também está associada à faixa etária dos animais. Bovinos com até seis meses de idade contam com anticorpos provenientes do colostro, os quais oferecem uma proteção contra a doença. É comum a presença de portadores da infecção em áreas endêmicas, onde alguns animais desenvolvem formas subclínicas da doença. Além disso, bovinos que se recuperaram de formas clínicas da doença podem continuar a ser portadores do agente infeccioso por até sete anos (Kocan *et al.*, 2003, 2010).

Srivastava & Ahluwalia (1974) relataram que, em um caso específico em búfalo, os sinais clínicos observados incluíam anemia hemolítica primária, que se agravava à medida que a proporção de eritrócitos infectados aumentava. Contudo, na maioria das situações, a doença apresentava baixa parasitemia, evoluindo de forma insidiosa, com sinais como inapetência, depressão, interrupção da ruminação, perda de peso, fezes escurecidas, taquicardia, taquipneia, constipação intestinal, além de mucosas ictéricas e pálidas. Por outro lado, Zhyldyz *et al.* (2019) observaram que, durante a coleta de amostras de búfalos, os animais não apresentaram sinais clínicos, embora tivessem resultados positivos para *A. marginale* por PCR convencional (*msh5*). No Brasil, estudos conduzidos por Gomes *et al.* (2008) e Lima *et al.* (2019) também detectaram a presença dessa espécie em búfalos, mas estes não exibiram sinais clínicos evidentes.

Os primeiros relatos sobre Anaplasmosose em búfalos no Brasil foram realizados por Franzolin-Neto *et al.* (1989) e Gomes *et al.* (2008). A situação do rebanho bubalino brasileiro em relação a essa enfermidade ainda é pouco documentada, com poucos estudos realizados em regiões endêmicas para o agente. Alguns estudos indicam uma prevalência de infecção nos búfalos inferior à observada nos bovinos (Joazeiro *et al.*, 2015; da Silva *et al.*, 2014a).

No Brasil, estudos realizados em áreas endêmicas para essa bactéria, especialmente na presença de bovinos, apontam variações na prevalência da infecção em búfalos. Corrêa (2011) identificou uma prevalência sorológica de 42% e

uma taxa de 5,42% de búfalos positivos por PCR. Silva *et al.* (2014b) encontraram 24,87% de positividade na sorologia e 2% na PCR. Em um estudo mais recente, Obregón *et al.* (2019) relataram uma prevalência sorológica de 54,6% e 47,9% na PCR, sem mencionar a presença de bovinos na área estudada. Essas variações entre os estudos indicam que a taxa de infecção em búfalos pode ser influenciada por diferentes fatores epidemiológicos, mas, em geral, tende a ser inferior à observada em bovinos.

O diagnóstico da anaplasmoze bovina pode ser realizado por meio da técnica de esfregaço sanguíneo, especialmente em animais com sinais clínicos durante a fase aguda da doença. Para estudos epidemiológicos, diversos testes sorológicos têm sido amplamente empregados (Dreher *et al.*, 2005). Com o avanço da biologia molecular, a PCR se tornou um método essencial para diagnóstico e caracterização de cepas com diversidade genética em diferentes regiões geográficas, sendo considerada a técnica mais sensível e específica (Kocan *et al.*, 2010).

Quanto ao tratamento em bovinos, alguns princípios ativos têm demonstrado eficácia no controle da infecção, como o cloridrato de oxitetraciclina (Pereira-Maia *et al.*, 2010), o dipropionato de imidocarb (Melo & Carvalho Neta, 2009) e a enrofloxacin (Kartinen *et al.*, 1995). Além disso, estudos realizados em infecções experimentais (Facury-Filho *et al.*, 2012) e em infecções naturais (Alberton *et al.*, 2015), indicam que a enrofloxacin é particularmente mais eficiente na redução dos níveis de infecção.

3.3.2. *Ehrlichia*

Outro importante gênero da família Anaplasmataceae é *Ehrlichia*, que compreende em bactérias Gram-negativo, intracelulares obrigatórias, transmitidas por carrapatos, que infectam leucócitos e células endoteliais em mamíferos, além de glândulas salivares, epitélio intestinal e células hemolinfáticas de carrapatos. As espécies são de relevância podendo causar doenças em humanos e mamíferos domésticos e silvestres, com seis espécies reconhecidas: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris*, *E. ruminantium* e *E. minasensis* (Dumler *et al.*, 2001; Cabezas-Cruz *et al.*, 2016).

Este gênero é responsável por causar a erliquiose, uma doença significativa em termos de impacto na saúde animal e humana, podendo provocar leucopenia, comprometendo a resposta imunológica do hospedeiro (Guyot *et al.*, 2011). As

infecções podem levar a sinais clínicos graves, destacando a necessidade de diagnóstico preciso e intervenções eficazes.

Em ruminantes, destaca-se *E. ruminantium*, um patógeno bovino comum na África Subsaariana e em algumas ilhas do Caribe, ainda não detectado no Brasil (Meyer *et al.*, 2023). No entanto, outra espécie relevante, *E. minasensis*, foi identificada no Brasil, inicialmente encontrada na hemolinfa do carrapato bovino (*R. microplus*), sendo considerada patogênica para bovinos. Essa bactéria localiza-se dentro de vacúolos ligados à membrana no citoplasma das células endoteliais, apresentando formato redondo ou oval, com diâmetro entre 0,4 e 1,5 µm, facilmente observável por coloração de Giemsa (Cabezas-Cruz *et al.*, 2016).

Além de bovinos (Aguiar *et al.*, 2014), *E. minasensis* também foi detectada em cervídeos (Lobanov *et al.*, 2012), equinos (Muraro *et al.*, 2021) e em várias espécies de carrapatos, incluindo os gêneros *Rhipicephalus* (Cabezas-Cruz *et al.*, 2016), *Amblyomma* (Iweriebor *et al.*, 2017), *Hyalomma* (Cicculi *et al.*, 2019), *Haemaphysalis* (Li *et al.*, 2019) e *Dermacentor* (Chilton *et al.*, 2023).

Um estudo experimental realizado por Aguiar *et al.* (2014) revelou os sinais clínicos e hematológicos de um bezerro infectado com *E. minasensis*. O DNA bacteriano foi detectado via PCR no 21º dia pós-infecção (pi), permanecendo positivo até o fim do experimento. Mórulas foram visualizadas no citoplasma de monócitos em esfregaços sanguíneos nos dias 28 e 35 pi. Sinais clínicos como anorexia, febre, letargia e sangramento no local de punção venosa surgiram aos 28 dias. Alterações hematológicas incluíram anemia, leucopenia e trombocitopenia. Nas avaliações *post-mortem* pode-se observar aumento e edema difuso dos linfonodos mesentéricos como lesões macroscópicas. Histopatologicamente, observaram-se hiperplasia linfonodal, hepatite multifocal mononuclear periportal e hiperplasia mieloide na medula óssea. Não houve alterações macroscópicas ou histopatológicas significativas nos pulmões, baço, rins, estômago ou cérebro.

A detecção em células sanguíneas por meio de esfregaços é uma técnica diagnóstica amplamente utilizada, mas de baixa sensibilidade, pois depende do número de células infectadas, que é maior na fase aguda da infecção. Métodos sorológicos, embora mais sensíveis, podem apresentar reações cruzadas que dificultam a precisão do diagnóstico, além de resultados falso-negativos durante a fase inicial da doença, quando os anticorpos ainda estão em formação. Já os ensaios moleculares, como a PCR, têm se destacado por sua elevada sensibilidade e

especificidade, permitindo a detecção de quantidades mínimas de material genético do patógeno (Paddock & Childs, 2003).

Até o momento, não há registros de infecções por espécies de *Ehrlichia* em *B. bubalis*. Entretanto, o mais próximo que se chegou a essa hipótese foi a sua detecção em sanguessugas (*Hirudinaria* sp.) que haviam se alimentado de sangue deste hospedeiro (Zhou *et al.*, 2019). Dado que essa espécie é relativamente nova e pouco estudada, é essencial ampliar as pesquisas para melhorar o entendimento sobre sua biologia e patogênese.

O tratamento para espécies de *Ehrlichia* identificadas em ruminantes no Brasil ainda carece de evidências científicas concretas, provavelmente devido à sua identificação recente. Entretanto, estudos realizados com *E. ruminantium* em pequenos ruminantes, sugerem abordagens terapêuticas que podem servir como base para futuras investigações, como o uso de antibióticos do grupo das Tetraciclina (Aitken & Longbottom, 2007) e Sulfonamidas (sulfapiridina e sulfadimidina) (Van Amstel & Oberem, 1987). Além disso, tratamentos de suporte têm sido aplicados incluindo: fluidos para expansão do volume vascular, o uso de diuréticos, como furosemida, manitol e solução de glicose a 50%, para reduzir a formação de edema, além de agentes anti-inflamatórios, como corticosteroides, anti-inflamatórios não esteroidais como o Dimetilsulfóxido (Van Amstel & Oberem, 1987).

3.3.3. *Mycoplasma*

Os micoplasmas hemotrópicos são bactérias da classe Mollicutes, caracterizadas principalmente pela ausência de parede celular (Combaz-Söhnchen & Kuhn, 2017). Conhecidos também como hemoplasmas, eles vêm ganhando relevância como patógenos emergentes tanto na medicina humana quanto veterinária (Maggi *et al.*, 2013a; 2013b; Hornok *et al.*, 2011). Inicialmente, foram classificados nos gêneros *Eperythrozoon* e *Haemobartonella* sob a ordem Rickettsiales, foram reclassificados como integrantes do gênero *Mycoplasma* devido a evidências filogenéticas baseadas em sequências de rRNA 16S e similaridades morfológicas. Estes possuem uma localização epieritrocítica, podendo ser transmitidos via transplacentária (Niethammer *et al.*, 2018; Andrade *et al.*, 2024) e por via iatrogênica (Strugnell & McAuliffe, 2012). Além disso, acredita-se que vetores artrópodes hematófagos, como carrapatos, moscas, mosquitos e piolhos também façam parte dessa disseminação (Neimark *et al.*, 2001).

Atualmente, duas espécies de hemoplasmas têm sido identificadas em bovinos e bubalinos: *Mycoplasma wenyonii* e '*Candidatus Mycoplasma haemobos*' (Erol *et al.*, 2023). Embora diversos estudos tenham indicado que espécies de *Mycoplasma* coevoluíram com diferentes espécies animais, incluindo humanos (Maggi *et al.*, 2013a), ainda existem lacunas significativas no conhecimento sobre a sua origem, evolução, transmissão e dispersão. A epidemiologia desses micoplasmas hemotrópicos, que infectam tanto animais domésticos quanto silvestres, além de humanos, permanece pouco explorada no Brasil. Além disso, têm sido encontradas infecções mistas com outros patógenos, evidenciando a complexidade das interações patogênicas em ruminantes (Giroto *et al.*, 2012; Witter *et al.*, 2017; Andrade *et al.*, 2024).

Embora as espécies de vetores envolvidas na transmissão de *M. wenyonii* e '*C. M. haemobos*' ainda não são totalmente conhecidas, recentemente, evidências indicaram que o carrapato *R. microplus* pode ser considerado seu vetor. Em um estudo realizado na China, fêmeas de *R. microplus* naturalmente infectadas por '*C. M. haemobos*' transmitiram o agente nos estágios de ovo e larva. Além disso, as larvas infectadas transmitiram o patógeno a camundongos durante a alimentação, e as larvas negativas adquiriram '*C. M. haemobos*' de camundongos infectados. Os autores concluem que *R. microplus* podem servir como vetor e reservatório desse *Mycoplasma* (Shi *et al.*, 2019a), além de moscas hematófagas como *Stomoxys calcitrans* e tabanídeos (Thongmeesee *et al.*, 2022). Além disso, DNA dessas espécies já foi identificado em outros artrópodes hematófagos, como piolhos e mutucas (Song *et al.*, 2013).

A descrição inicial de *M. wenyonii* ocorreu em 1934 (Adler & Ellenbogen, 1934), e desde então foi relatada em bovinos de diversas regiões do mundo, incluindo Inglaterra, Japão, Suíça, Brasil e China (Hofmann-Lehmann *et al.*, 2004; Tagawa *et al.*, 2008; Su *et al.*, 2010; Giroto *et al.*, 2012; Martinez-Ocampo *et al.*, 2016; Tatsukawa *et al.*, 2021). Já '*C. M. haemobos*' foi descrito mais recentemente, sendo identificado em bovinos de regiões como Japão e Alemanha (Tagawa *et al.*, 2008; Hoelzle *et al.*, 2011). A designação "*Candidatus*" é atribuída a novas espécies cuja classificação definitiva ainda não foi possível devido à falta de informações completas sobre a espécie (Oren, 2021). Estudos do gene 16S rRNA mostraram que '*C. M. haemobos*' apresenta grande proximidade genética com *M. haemofelis*, espécie conhecida por causar anemia infecciosa em gatos (Tagawa *et al.*, 2008). Além disso,

pesquisas indicam que o seu genoma apresenta alta dinâmica, com variações em tamanho e posição dos genes, além de diferenças regionais significativas, como observado em isolados de países da América (Flores-García *et al.*, 2022).

A patogenia dessas espécies ainda não é totalmente compreendida, embora evidências sugiram que ‘*C. M. haemobos*’ pode ser mais patogênico do que *M. wenyonii* (Tagawa *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010). Coinfecções com outros hemoplasmas ou agentes como *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. e *Theileria* spp. parecem agravar os sinais clínicos nos hospedeiros, mas essa hipótese ainda necessita de validação por meio de mais estudos (Hofmann-Lehmann *et al.*, 2004; Meli *et al.*, 2010; Hornok *et al.*, 2011).

Diversos sinais clínicos foram associados às infecções por essas espécies em bovinos, bubalinos e pequenos ruminantes, incluindo anemia, febre transitória, linfadenopatia, edema, perda de peso, distúrbios reprodutivos e redução na produção leiteira (Hoelzle *et al.*, 2011; Tagawa *et al.*, 2008; Shi *et al.*, 2019b; Paul *et al.*, 2020). Em casos crônicos, podem causar infertilidade, claudicação e anemia persistente, especialmente em situações de coinfecção (Meli *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2010).

A prevalência dessas infecções varia amplamente de acordo com a região e a espécie. Estudos recentes revisados por De Souza Ferreira & Ruegg (2024) mostram que *M. wenyonii* e ‘*C. M. haemobos*’ foram detectados em bovinos de diversos países e as taxas de prevalência relatadas foram altamente variáveis, indo de 0% a 95% para *M. wenyonii* e de 2% a 97% para ‘*C. M. haemobos*’. Além disso, estudos feitos em bubalinos em diferentes regiões também demonstraram taxas variáveis para as espécies citadas. No Brasil, Santos *et al.* (2018) relataram uma prevalência para *Mycoplasma* sp. de 34,83% (101/290) em bezerros bubalinos no Maranhão, entre esses, 15,84% (16/101) foram exclusivamente *M. wenyonii*, 5,94% (6/101) de ‘*C. M. haemobos*’, e 69,22% (79/101) apresentaram coinfecção por ambas as espécies. Já na Turquia, Erol *et al.* (2023) avaliaram amostras de sangue de búfalos na região de Sivas, detectando prevalência de 4,72% (17/360) para este gênero. Destas, 2,50% (9/17) foram positivas apenas para *M. wenyonii*, 0,83% (3/17) para ‘*C. M. haemobos*’ isoladamente, e 1,38% (5/17) apresentaram coinfecção. Essas discrepâncias podem ser atribuídas a fatores regionais, como a presença e a diversidade de vetores, práticas de manejo e diferenças no clima local.

Embora a ocorrência desses hemopatógenos em bovinos seja amplamente documentada, informações sobre sua presença em outros vertebrados, possíveis

vetores invertebrados, vias de transmissão e impacto na saúde animal ainda são limitadas, destacando a necessidade de mais investigações (Ayling *et al.*, 2012).

O seu diagnóstico é desafiador, pois esses microrganismos nunca foram cultivados com sucesso *in vitro*. Métodos tradicionais, como o exame de esfregaços sanguíneos corados por Giemsa, apresentam baixa sensibilidade e especificidade devido à presença de artefatos, como corpos de Howell-Jolly e detritos, que podem ser confundidos, além das cargas bacterianas frequentemente baixas e cíclicas durante infecções crônicas (Sykes & Tasker, 2014; Ritzmann *et al.*, 2009).

A dificuldade em cultivar essas bactérias para diagnóstico foi superada com o uso de técnicas moleculares, como a PCR, que oferecem maior sensibilidade e especificidade, permitindo a identificação precisa das espécies (Meli *et al.*, 2010; Nishizawa *et al.*, 2010). Assim como relatam De Mello *et al.* (2019) a possibilidade de caracterização molecular das espécies *M. wenyonii* e '*C. M. haemobos*' em bovinos de corte no Brasil.

Poucos estudos comprovam a eficácia do tratamento para infecções pelas espécies citadas acima, em grande parte devido a sua patogenia ainda pouco compreendida. Além disso, os sinais clínicos frequentemente estão associados a coinfeções com outros patógenos, dificultando a interpretação e a validação de tratamentos específicos. Entretanto, Yan *et al.* (2008) realizaram um experimento utilizando a combinação de injeção de dipropionato de imidocarb com acupuntura para tratar *M. wenyonii* em vacas, demonstrando resultados promissores. Além desse, em outro estudo o mesmo medicamento foi utilizado em ovinos infectados experimentalmente por *M. ovis*, reduzindo rapidamente a parasitemia, com eliminação do patógeno em até 48 horas após o início do tratamento (Hung, 1986). Esses resultados sugerem que o dipropionato de imidocarb pode ser uma alternativa eficaz para infecções similares.

3.3.4. Piroplasmas

Os piroplasmídeos pertencem à ordem Piroplasmida e são protozoários intracelulares obrigatórios que infectam principalmente os eritrócitos de mamíferos e outros vertebrados. Sua transmissão ocorre por meio de vetores artrópodes, predominantemente carrapatos, durante o repasto sanguíneo (Ristic & Kreier, 1981). Esses parasitos estão entre os agentes transmitidos por carrapatos mais relevantes, afetando animais domésticos e selvagens em todo o mundo. Os gêneros de maior

importância para ruminantes domésticos são *Babesia* e *Theileria*, destacando-se por causar significativas perdas econômicas na pecuária em todo o mundo (Sivakumar *et al.*, 2014; Alvarado-Rybak *et al.*, 2016).

A babesiose é uma doença endêmica em regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo causada principalmente pelos protozoários *B. bovis* e *B. bigemina* na América Latina e no Caribe (Alonso *et al.*, 1992; Guglielmone, 1995; Gondard *et al.*, 2017). Essa enfermidade integra o complexo da Tristeza Parasitária Bovina, com o carrapato *R. microplus* como seu principal vetor (Suarez & Noh, 2011). Além dessas regiões, essas espécies também foram relatadas na Ásia, África, Austrália, além do sul da Europa (Uilenberg, 1995). Enquanto *B. bigemina* é amplamente prevalente, *B. bovis* se destaca pela sua alta patogenicidade (Jacob *et al.*, 2020). Outras espécies relevantes incluem *Babesia divergens*, predominante no centro e norte da Europa; *B. major*, também presente na Europa; e *B. orientalis*, registrada na China e associada principalmente a rebanhos de búfalos (Zhao *et al.*, 2002).

Em bovinos, *B. bigemina* provoca anemia hemolítica, frequentemente acompanhada de hemoglobinúria, podendo evoluir para a morte, com taxas de mortalidade de até 30% em animais não tratados. Já a infecção por *B. bovis* é mais severa, devido ao sequestro de eritrócitos infectados nos capilares, o que pode resultar em falência de órgãos, sinais neurológicos, danos capilares e uma taxa de mortalidade de 70% a 80% (Bock *et al.*, 2004; Jacob *et al.*, 2020). Ambas as infecções também apresentam sinais clínicos como febre e icterícia (Silva *et al.*, 2018).

A espécie *B. orientalis* é transmitida especificamente a búfalos pelo carrapato *Rhipicephalus haemaphysaloides*, sendo responsável por manifestações clínicas como anemia, febre, icterícia, hemoglobinúria e até mesmo morte (Liu *et al.*, 1987). Até então, essa infecção parasitária ocorre apenas em búfalos, causando sérios prejuízos econômicos na pecuária, principalmente nas regiões central e sul da China. Além disso, nessas regiões as taxas de infecção são significativamente superiores às de *B. bovis* e *B. bigemina* (He *et al.*, 2012).

Embora os búfalos sejam considerados mais resistentes, eles também podem ser infectados por *B. bovis* e *B. bigemina*, especialmente quando convivem com bovinos (Mahmmod, 2013; Obregón *et al.*, 2019). Em geral, os sinais clínicos nos búfalos são mais brandos, mas estudos realizados na América Latina e na Ásia relatam infecções agudas com sintomas graves, incluindo aborto e mortalidade (Lau, 1999; Escobar, 2010). Além disso, em outro estudo realizado em Cuba, *B. bovis* foi

associado a doenças graves em búbalos, sugerindo que esses animais podem atuar como reservatórios desses hemoprotozoários e representar uma fonte de infecção (Obregón *et al.*, 2019).

O diagnóstico da babesiose em bovinos baseia-se frequentemente no esfregaço sanguíneo corado com Giemsa, sendo este o padrão ouro durante a fase aguda da doença (Mahoney, 1969). Contudo, em búbalos, a baixa parasitemia dificulta a detecção através desta técnica direta (Terkawi *et al.*, 2011). Em animais portadores assintomáticos, técnicas moleculares como a PCR são mais eficazes para identificar o DNA de *Babesia* spp. (Parodi *et al.*, 2021). Embora os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) e os testes de imunofluorescência indireta (RIFI) sejam ferramentas valiosas para estudos epidemiológicos, sua utilidade como diagnóstico de infecções ativas é limitada. A incapacidade desses testes de determinar se a infecção é recente ou não, restringe sua aplicação em casos individuais (Toure *et al.*, 2023).

O tratamento da babesiose é tipicamente realizado com o uso de quimioterápicos como dipropionato de imidocarb e aceturato de diminazeno, que apresentam maior eficácia quando administrados nos estágios iniciais da doença, ajudando a reduzir os impactos clínicos graves (Böse *et al.*, 1995). No entanto, o sucesso terapêutico depende de um diagnóstico precoce e, mesmo com o tratamento adequado, o prognóstico nem sempre é favorável, especialmente em casos graves, onde a infecção pode levar a complicações irreversíveis. Além disso, a prevenção exige também o controle do vetor, geralmente realizado por meio de acaricidas, visando prevenir a disseminação do protozoário e minimizando os danos econômicos causados pela doença na produção animal (Bock *et al.*, 2004).

A theileriose é outra doença causada por um piroplasmídeo transmitido por carrapatos, gerando consequências como debilitação dos animais, mortalidade súbita, morbidade elevada, redução na produção, bem como custos adicionais com acaricidas, terapias e vacinas (Ayadi *et al.*, 2016). O seu agente *Theileria* abrange espécies cosmopolitas que infectam diferentes espécies animais. No Brasil, as espécies identificadas foram em cervídeos (Silveira *et al.*, 2014; Calchi *et al.*, 2024), gatos (André *et al.*, 2015), equídeos (Pereira *et al.*, 2023), bubalinos (Silveira *et al.*, 2016) e antas (Mongruel *et al.*, 2022). Entre os bubalinos, detectou-se a espécie *T. orientalis*, especialmente na região amazônica brasileira (Silveira *et al.*, 2016; Araújo, 2022). Essa espécie é transmitida por carrapatos do gênero *Haemaphysalis*, encontrados apenas na Europa, Ásia e Austrália (Uilenberg *et al.*, 1982). Por isso,

estudos futuros são necessários para avaliar a importância de *R. microplus* como vetor de *T. orientalis* no Brasil.

Embora a doença clínica causada por *T. orientalis* seja rara em bubalinos, com algumas exceções, esses animais podem atuar como reservatórios para o protozoário. Casos fatais de theileriose oriental em búfalos asiáticos foram descritos em uma fazenda leiteira na Índia, onde os animais apresentaram sinais clínicos após o estresse do transporte. Mesmo com tratamento intensivo, a mortalidade foi alta, e os sobreviventes exibiram baixo desempenho produtivo (Vinodkumar *et al.*, 2016).

O quadro clínico da infecção em bubalinos é ainda controverso. Alguns estudos relatam a associação com doenças linfoproliferativas, enquanto outros indicam que os sinais clínicos são raros ou ausentes (Sivakumar *et al.*, 2014; Silveira *et al.*, 2016). No entanto, surtos fatais destacam a necessidade de monitoramento e controle da infecção, especialmente em regiões onde o pastejo de múltiplas espécies é comum, pois a transmissão entre espécies pode ocorrer, levando a consequências econômicas significativas (Watts *et al.*, 2016).

A evolução taxonômica do grupo *T. buffeli/orientalis* reflete a complexidade de sua classificação. A espécie *T. buffeli* foi originalmente descrita em búfalos asiáticos domésticos, enquanto *T. orientalis* foi identificada na Sibéria Oriental. Estudos sugerem que esses protozoários podem ter evoluído em bubalinos, que são considerados hospedeiros primordiais para a transformação dessas espécies (Neveu-Lemaire, 1912; Bishop *et al.*, 2015).

Embora não haja registros de casos de *Theileria* em búfalos criados na região Sudeste do Brasil, a expansão da bubalinocultura e a interação com bovinos reforçam a necessidade de investigações epidemiológicas para compreender a patogenia e os fatores de risco associados à theileriose no país.

Já a theileriose tropical é uma doença causada pela espécie *Theileria annulata*, que afeta bovinos e bubalinos, resultando em perdas econômicas expressivas na pecuária leiteira e de corte. Essa doença está associada a altas taxas de mortalidade em bovinos e constitui um obstáculo para programas de melhoramento genético, reduzindo significativamente a produtividade (Stagg *et al.*, 1983; Maxie, 2015). Além disso, essa espécie apresenta uma distribuição geográfica ampla, sendo encontrada na Ásia, Oriente Médio, sul da Europa e norte da África (Chae *et al.*, 1999). É transmitida por diversas espécies de carrapatos duros do gênero *Hyalomma*, como *H. anatolicum*, *H. lusitanicum*, *H. scupense* e *H. dromedarii* (Uilenberg *et al.*, 1982;

Vinodkumar *et al.*, 2016). Entretanto, até os dias atuais, não foi relatada em nenhum hospedeiro em território brasileiro, provavelmente devido à ausência do seu vetor biológico.

Embora *T. annulata* infecte principalmente bovinos domésticos (*Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*), também há relatos de infecção em búfalos asiáticos (*B. bubalis*), que são considerados hospedeiros naturais do protozoário (Stagg *et al.*, 1983). Apesar de os búfalos frequentemente controlarem a infecção por meio de respostas imunes mediadas por células e anticorpos, eles podem atuar como portadores assintomáticos. Os sinais clínicos associados à infecção podem incluir depressão, lacrimejamento, diarreia, anorexia, perda de peso, aborto, opacidade da córnea, edema pulmonar grave com dispneia e secreção nasal espumosa. Além disso, linfonodos superficiais aumentados, icterícia, anemia e, raramente, hemoglobinúria também podem ser observados (Maxie, 2015).

O diagnóstico da theileriose por *T. annulata* pode ser realizado de forma inicial pela observação de carrapatos, aumento superficial dos linfonodos, identificação de esquizontes de *Theileria* em linfócitos por exame microscópico e avaliação de sinais clínicos (Luo & Lu, 1997; Yin *et al.*, 2008). Métodos moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Aktas *et al.*, 2002), e a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) (Liu *et al.*, 2013) permitem a detecção e identificação dos parasitos em animais e carrapatos com alta precisão. O sorodiagnóstico pode ser realizado por imunofluorescência indireta (RIFI) (OIE, 2014) ou por ensaios imunoenzimáticos (ELISAs) (Seitzer *et al.*, 2007). Métodos mais recentes, como a multiplex qPCR, destacam-se por sua elevada sensibilidade, especificidade e precisão, sendo superiores à coloração de Giemsa e à microscopia fluorescente baseada em corante de acridina (Sinha *et al.*, 2023).

Diversos medicamentos foram avaliados ao longo dos anos para o tratamento da theileriose. Em 1975, foi descoberto que o fosfato de primaquina era eficaz na eliminação de gametócitos de *T. annulata*. A dosagem recomendada era de 0,75 mg/kg de peso corporal, administrada por via oral com água. O tratamento mostrou-se seguro e com eficácia de 100%, sendo amplamente utilizado na China (Zhang, 1997).

Atualmente, o tratamento mais comum para a theileriose bovina envolve o uso da buparvaquona, conforme relatado por Tajeri *et al.* (2021). Além disso, o tratamento empírico com oxitetraciclina apresentou efeitos sintomáticos benéficos tanto em

infecções por *Anaplasma* quanto por *Theileria*, incluindo coinfeções. A oxitetraciclina em formulação de ação prolongada (LA) é considerada útil contra essas infecções (Kumar *et al.*, 2022).

3.4. Fatores de risco para Tristeza Parasitária Bovina e seus vetores

A tristeza parasitária bovina (TPB) é uma doença endêmica de grande relevância na América Latina, causada por hemopatógenos como *Babesia* spp. e *A. marginale*. Esses parasitos provocam anemia severa, redução do desempenho produtivo e aumento dos custos de produção (Bock *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2014b). As condições climáticas da região são fatores determinantes para a epidemiologia dessas enfermidades, sendo o verão e o outono as estações em que ocorrem os maiores índices de surtos (Almeida *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2013; Araoz *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2017).

Em áreas endêmicas, os animais adquirem imunidade desde cedo, devido à exposição contínua aos hemopatógenos desde o nascimento. Isso ocorre porque a presença constante de carrapatos vetores ao longo do ano promove inoculações frequentes dos agentes infecciosos. Como consequência, os animais desenvolvem imunidade específica, que geralmente os protege contra formas clínicas graves. Nesses locais, surtos são raros, e bezerros, embora apresentem alta prevalência de hemopatógenos, geralmente não manifestam sinais clínicos (Madruga *et al.*, 2000). Entretanto, mudanças no manejo ou nas condições climáticas podem desestabilizar esse equilíbrio imunológico, aumentando a suscetibilidade dos animais, principalmente em situações de manejo inadequado ou introdução de animais oriundos de áreas instáveis (Folly *et al.*, 2009).

Por outro lado, em áreas de não endêmicas, a baixa soroprevalência de hemopatógenos é característica. Isso se deve à exposição insuficiente dos bezerros a carrapatos infectados nos primeiros meses de vida, período crítico para o desenvolvimento da imunidade natural. Nessas regiões, os animais adultos, por não adquirirem imunidade na fase inicial, tornam-se mais suscetíveis a formas graves das doenças, aumentando o risco de surtos. Estudos realizados na Paraíba destacaram que a instabilidade enzoótica está associada a condições que limitam a exposição dos bezerros aos vetores infectados, como baixa infestação de carrapatos, mudanças no manejo e isolamento dos animais (Costa *et al.*, 2013).

Fatores como clima, tipo de pastagem, manejo de estresse e práticas inadequadas, como transporte de animais entre zonas com diferentes perfis enzoóticos, podem influenciar a transição entre esses estados. A investigação detalhada em biomas como Amazônia, Pantanal e Mata Atlântica é essencial para compreender melhor os fatores predisponentes e a relevância de outras fontes de transmissão, frequentemente negligenciadas em estudos epidemiológicos, como presença de insetos hematófagos, transmissão iatrogênica e transplacentária (Puentes & Riet-Correa, 2023).

Alguns estudos realizados pelo mundo estabeleceram fatores de risco para os agentes da TPB em bovinos. Primeiramente, a espécie do hospedeiro foi de grande relevância, sendo que *Bos taurus taurus* é a mais suscetível (D'Andrea *et al.*, 2006; Da Silva *et al.*, 2014a; Da Silva *et al.*, 2014b; Moumouni *et al.* 2018). Além disso, a categoria do animal também representou importante fator de risco, sendo apresentado como vacas em período periparto, em lactação e bezerros, os mais propícios a serem infectados por hemopatógenos (Jones *et al.*, 1968; Da Silva & Da Fonseca, 2013; Ashuma *et al.* 2013; Amorim *et al.* 2014). E ainda, quanto maior a produtividade leiteira, maior a probabilidade de infestação por carrapatos (Da Silva *et al.*, 2014b). Em relação ao sexo, Moumouni *et al.* (2018) relataram que bovinos machos são mais propícios a serem infectados por *B. bovis* do que fêmeas.

A presença do carrapato no ambiente é um dos principais fatores de risco apresentados para TPB em um rebanho (Da Silva *et al.*; 2014a; Amorim *et al.* 2014). Sendo que, existem outros fatores que interferem na existência do carrapato, como a região onde se encontra. Regiões de bioma de Floresta Amazônica, Agreste e Zona da Mata, as quais possuem o clima altamente favorável para o desenvolvimento do vetor, permitem a sua perpetuação durante todo o ano, aumentando os índices de soropositividade para hemopatógenos em bezerros (Brito *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2017). Isso mostra que, o aumento de umidade e temperatura são fatores de risco para a presença de carrapatos e consequentemente, para infecções (Costa *et al.*, 2013).

Outro fator de risco é o tipo de manejo do rebanho, como por exemplo, animais que costumam ser criados em sistema extensivo ou agro-pastoril, são mais suscetíveis a ter contato com carrapatos e consequentemente os hemopatógenos (Moumouni *et al.* 2018). Principalmente se não existir um manejo sanitário adequado, assim como a falta de controle efetivo de ectoparasitos incluindo carrapatos e moscas,

o que pode resultar em uma superpopulação. Outro ponto apresentado por Costa *et al.* (2013) é a aplicação frequente de anti-helmínticos injetáveis, sendo associada a maior prevalência de *A. marginale*, possivelmente devido à transmissão iatrogênica desse agente.

Em búfalos, os estudos que avaliam os fatores de risco ainda são escassos, principalmente no Brasil. Yousef *et al.* (2024) realizaram um estudo recente no Egito, onde observaram que idade, sexo, espécie, existência de carrapatos e localidade são fatores que favorecem a infecção por *B. bigemina* em bubalinos, o que vai de encontro com os dados relatados acima em bovinos. Todavia, neste estudo observaram que animais acima de um ano de vida foram mais suscetíveis a essa infecção do que bezerros, podendo ser justificado pelo fato da maioria das criações de búfalos serem feitas em sistema extensivo, diferente de bovinos, geralmente de raça leiteira, costumam ir para ambientes onde o carrapato não consegue se perpetuar. O que entra em desacordo com os dados obtidos em Santarém, no estado do Pará, por Batista *et al.* (2018), que mostraram que búfalos mais jovens, com idades entre um e 12 meses, mostraram uma probabilidade seis vezes maior de estarem infestados por carrapatos em comparação aos indivíduos com mais de 24 meses.

No Brasil, especificamente na região amazônica, Silva *et al.* (2014b) relataram que a ausência de controle de carrapatos e moscas hematófagas foi um fator determinante para infecções por *A. marginale*, visto que, diferentemente de outras regiões, os búfalos dessa região não recebem tratamentos regulares para controle de ectoparasitos, ficando mais expostos aos vetores biológicos e mecânicos do patógeno. Além disso, as práticas de manejo nutricional também variaram entre as regiões, sendo que os búfalos dessa região são criados extensivamente sem suplementos, o que pode impactar negativamente sua imunidade.

Outro fator de risco identificado foi o estado fisiológico das búfalas prenhes, que apresentou uma taxa de infecção ligeiramente maior, assim como observado em bovinos. Esse aumento pode ser atribuído a alterações hormonais e imunológicas associadas à gestação e à lactação, que resultam em um estado de imunossupressão. Essa condição fisiológica reduz a capacidade das búfalas de combater infecções, tornando-as mais suscetíveis aos hemopatógenos (Silva *et al.* 2014b).

Assim como em bovinos, a distribuição geográfica é um fator essencial na prevalência de *A. marginale* em búfalos, com as condições ambientais influenciando diretamente a infestação por carrapatos. Em áreas alagadas, como na Ilha de Marajó,

o contato dos búfalos com carrapatos pode ser reduzido devido às características do ambiente, que dificultam o ciclo de vida desses vetores. Contudo, mesmo nesses locais, a exposição a vetores mecânicos, como moscas hematófagas, ainda representa um risco importante para a transmissão do patógeno (Silva *et al.*, 2014b).

Por outro lado, em regiões mais secas, Batista *et al.* (2018) evidenciaram que as características climáticas favorecem a infestação por carrapatos, o que reforça ser um fator de risco. Nessas áreas, a ausência do comportamento típico dos búfalos de se cobrirem com lama, observado em ambientes alagados, pode aumentar a vulnerabilidade desses animais a ectoparasitos.

Por fim, também pode-se levar em consideração como um fator de risco a origem dos animais. Pois, segundo Batista *et al.* (2018), os búfalos adquiridos de outras fazendas apresentaram uma maior propensão a serem infestados por carrapatos do que os que nasceram na própria propriedade.

3.5. Imunidade do hospedeiro frente ao carrapato *Rhipicephalus microplus*

A imunidade contra carrapatos é caracterizada pela resposta do hospedeiro capaz de comprometer a sua alimentação e o seu ciclo reprodutivo. Ela geralmente é adquirida após exposições repetidas, podendo resultar em redução significativa no número de carrapatos fixados, no seu peso, no tempo de alimentação, na massa de ovos produzida e no tempo de muda (Trager, 1939). Estudos como o de Nuttall (1911), apontaram para uma resposta natural do hospedeiro humano contra carrapatos, enquanto Trager (1939) demonstrou experimentalmente que cobaios desenvolviam resistência após sucessivas infestações com *Dermacentor variabilis*, evidenciada pela menor taxa de alimentação das larvas e redução de seu peso.

Desde então, diversos estudos corroboram que a resposta imunológica do hospedeiro pode afetar múltiplos estágios do ciclo de vida dos carrapatos (Gregson, 1941; Feldman-Muhsam, 1964; Wikel, 1996). Fatores imunológicos como a presença aumentada de eosinófilos, basófilos, mastócitos, células T, imunoglobulinas específicas, liberação de histamina e alterações nos perfis de expressão gênica têm sido relacionados à resistência do hospedeiro (Kongsuwan *et al.*, 2010; Piper *et al.*, 2010; Engracia Filho *et al.*, 2017).

Em bovinos, a suscetibilidade ou resistência à infestação por *Rhipicephalus microplus* varia de acordo com o fundo genético, sendo resultado da coevolução entre hospedeiro e parasito, além de décadas de seleção artificial

(Wambura *et al.*, 1998; Jonsson *et al.*, 2014; Biegelmeyer *et al.*, 2015). Em raças zebuínas (*Bos taurus indicus*), esse parasito coevoluiu por anos, o que fez com que esse fosse diversamente distribuído pelas regiões tropicais e subtropicais do mundo, propiciando aos bovinos o desenvolvimento de uma resposta imunológica eficiente contra o carrapato. Já as raças taurinas (*Bos taurus taurus*), de origem europeia, conhecidas pela sua grande aptidão leiteira, se demonstraram pouco resistentes quando introduzidas em regiões endêmicas para *R. microplus* (Frisch, 1999).

Entre os fatores que potencialmente contribuem para a resistência de bovinos a *R. microplus*, aspectos físicos e comportamentais têm sido investigados. Alguns estudos apontam que essa diferença de resistência entre espécies se dá por algumas barreiras físicas como espessura e pigmentação da pele, tipo de pelagem, hábitos de autolimpeza, papilas da língua e odor (de Castro *et al.*, 1985; Spickett *et al.*, 1989; Veríssimo *et al.*, 2002, 2015; Martinez *et al.*, 2006; Gasparin *et al.*, 2007). Foi observado que raças resistentes apresentam papilas mais próximas entre si, o que pode aumentar a eficácia da remoção de larvas durante o hábito de se lambar (Veríssimo *et al.*, 2015). Além disso, existe a hipótese de que essas raças realizem comportamentos de limpeza com maior frequência, o que contribuiria para a menor carga parasitária observada nesses animais (Kemp *et al.*, 1976).

Outros estudos relatam que as imunoglobulinas (IgG) presentes nos bovinos, proteínas do sistema imunológico, são ingeridas pelos carrapatos durante o repasto sanguíneo e agem no seu organismo, impedindo a modulação feita pelas proteínas salivares do parasito no sistema imune do hospedeiro e agindo também diretamente nos órgãos do carrapato (Ackerman *et al.*, 1981; Willadsen & Kemp, 1988; Tellam *et al.*, 1992). Entretanto, Piper *et al.* (2008, 2009, 2010) fizeram estudos comparando raças zebuínas e taurinas, sendo que a raça Holandês (*B. t. taurus*) apresentou níveis mais altos de IgGs específicos para carrapatos em comparação com a raça Brahman (*B. t. indicus*), sugerindo que esses anticorpos não protegem o animal efetivamente. Portanto, essas respostas imunológicas demonstram variações significativas tanto entre raças bovinas quanto entre indivíduos da mesma raça, sendo influenciadas pelo tipo de exposição ao parasito, que pode ser com ou sem contato prévio com carrapatos (Kashino *et al.*, 2005; Piper *et al.*, 2008, 2009). Diante dessa complexidade, destaca-se a necessidade de mais pesquisas voltadas à investigação de proteínas específicas do carrapato, a fim de elucidar com maior precisão os mecanismos imunológicos que distinguem hospedeiros resistentes dos suscetíveis.

A análise da expressão gênica em bovinos infestados por carrapatos tem revelado importantes diferenças moleculares entre animais resistentes e suscetíveis. Utilizando amostras de leucócitos periféricos e de pele em locais de fixação das larvas, abordagens como qPCR, bibliotecas de cDNA, microarranjos e sequenciamento revelaram que animais resistentes (*B. t. indicus*) tendem a apresentar respostas imunológicas do tipo T mediadas por células, enquanto os suscetíveis (*B. t. taurus*) demonstram perfis inflamatórios mais intensos (Kashino *et al.*, 2005; Piper *et al.*, 2009, 2010). A expressão diferencial de genes relacionados a citocinas, quimiocinas, colágenos e proteínas de ligação ao cálcio também foi observada, indicando uma maior propensão inflamatória nos suscetíveis (Nascimento *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2014; Franzin *et al.*, 2017). Em adição, estudos revelam que a resposta dos carrapatos também varia conforme o hospedeiro, com modulação de genes envolvidos em evasão imunológica e digestão, demonstrando a interação dinâmica entre parasito e hospedeiro (Rodriguez-Valle *et al.*, 2010; Franzin *et al.*, 2017). Essas descobertas reforçam que a resistência ao carrapato envolve mecanismos complexos, dependentes tanto da genética do hospedeiro quanto das respostas moleculares adaptativas do parasito.

A resposta imune cutânea de bovinos frente à infestação por *R. microplus* envolve diferentes células de defesa. Enquanto níveis elevados de neutrófilos são frequentemente observados em raças suscetíveis, possivelmente favorecendo a alimentação do carrapato, mastócitos, eosinófilos e basófilos tendem a estar mais presentes em raças resistentes, associados à liberação de histamina e à rejeição do parasito (Marufu *et al.*, 2013; Constantinoiu *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2010; Franzin *et al.*, 2017). A histamina, em especial, parece exercer papel protetor ao dificultar a fixação do carrapato e estimular o comportamento de *grooming*. Esses achados sugerem que a resistência também pode estar relacionada a mecanismos imunes mediados por hipersensibilidade tardia e maior atividade de células envolvidas em respostas alérgicas.

Apesar dos avanços na compreensão dos mecanismos imunológicos envolvidos na resistência a carrapatos em diferentes raças bovinas, ainda há uma lacuna significativa no conhecimento relacionado à espécie *Bubalus bubalis* (búfalos). De acordo com o nosso conhecimento, não foram identificados estudos que investiguem detalhadamente o papel de células imunes na resistência desses animais à infestação por carrapatos. Considerando as diferenças fisiológicas e imunológicas

entre búfalos e bovinos, é fundamental que novos estudos sejam conduzidos para elucidar se mecanismos semelhantes de resistência, como o recrutamento de mastócitos, eosinófilos e basófilos, também estão presentes em bubalinos.

4. CAPÍTULO 1

CICLO DE VIDA DE *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) EM BÚFALOS (*Bubalus bubalis*): INTERAÇÕES E IMPLICAÇÕES EM INFESTAÇÕES EXPERIMENTAIS

4.1. Resumo

Os carrapatos, especialmente *Rhipicephalus microplus*, são de grande importância na saúde animal, com destaque para os búfalos, hospedeiros definitivos não preferenciais importantes, mas pouco estudados. Portanto, este estudo teve como objetivo descrever o ciclo biológico de *R. microplus* em dois bezerros bubalinos oriundos de uma propriedade com histórico de elevada infestação do ixodídeo. Durante uma infestação natural intensa, um bezerro de 30 dias (249) foi a óbito devido à anemia severa associada à elevada carga parasitária. Foram observadas alopecia, palidez de mucosas, prostração, linfonodomegalia e redução da ingestão de água e alimentos. No exame *post-mortem*, evidenciaram-se palidez generalizada, enfisema pulmonar e ausência de coágulos sanguíneos. Na necropsia, foram coletadas 4.939 teleóginas ingurgitadas, 590 partenóginas e 271 machos. Amostras de baço e fígado foram negativas para *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *B. bigemina* por PCR. No bezerro 237, a infestação natural apresentou sinais mais brandos de parasitismo, com algumas ninfas detectadas nove dias após sua chegada. No entanto, observou-se queda no volume globular, indicando risco de anemia severa, o que motivou a catação manual de teleóginas. Durante a primeira infestação experimental, o animal apresentou alopecia, linfonodomegalia, diarreia e dermatofitose. Na segunda infestação, observaram-se prurido intenso, pápulas no couro e linfonodomegalia. As mudanças dos estágios de desenvolvimento, na primeira e na segunda infestação experimental, ocorreram: de larvas para ninfas, entre o 4º e o 5º dia, enquanto de ninfas para adultos, entre o 10º e o 12º dia após a infestação, respectivamente. Não houve diferença estatística no peso de teleóginas pós-desprendimento ou na taxa de eclodibilidade, mas observou-se uma diferença estatística entre o peso da massa de ovos, além de uma redução do índice de produção de ovos, sendo na primeira 48,63% e na segunda 29,04%, e uma menor recuperação de teleóginas (0,27%). Esses achados sugerem um possível desenvolvimento de resistência do hospedeiro ao parasitismo após infestações sucessivas, interferindo no desenvolvimento dos carrapatos. Não houve transmissão de hemopatógenos durante o estudo. Esses resultados contribuem para a compreensão do ciclo de vida de *R. microplus* em búfalos e fornecem informações úteis para o controle e manejo desse ectoparasito.

Palavras-chave: *Bubalus bubalis*, bezerros, carrapatos, resistência.

4.2. Abstract

Ticks, especially *Rhipicephalus microplus*, are of great importance in animal health, particularly in buffaloes, which are significant but understudied non-preferential

definitive hosts. Therefore, this study aimed to describe the biological cycle of *R. microplus* in two buffalo calves from a property with a history of high ixodid infestation. During a severe natural infestation, a 30-day-old calf (249) died due to severe anemia associated with a high parasitic burden. Alopecia, mucosal pallor, prostration, lymphadenomegaly, and reduced water and food intake were observed. Post-mortem examination revealed generalized pallor, pulmonary emphysema, and the absence of blood clots. During necropsy, 4,939 engorged teleogynes, 590 parthenogenetic females, and 271 males were collected. Spleen and liver samples tested negative for *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis*, and *B. bigemina* by PCR. In calf 237, natural infestation showed milder signs of parasitism, with some nymphs detected nine days after its arrival. However, a decrease in packed cell volume was observed, indicating a risk of severe anemia, which led to the manual removal of teleogynes. During the first experimental infestation, the animal presented alopecia, lymphadenomegaly, diarrhea, and dermatophytosis. In the second infestation, intense pruritus, papules on the skin, and lymphadenomegaly were observed. The transitions between developmental stages during the first and second experimental infestations occurred as follows: from larvae to nymphs between the 4th and 5th day and from nymphs to adults between the 10th and 12th day after infestation, respectively. No statistical difference was found in the post-detachment weight of teleogynes or in the hatchability rate. However, a statistical difference was observed in egg mass weight, along with a reduction in the egg production index—48.63% in the first infestation and 29.04% in the second—along with a lower teleogyne recovery rate (0.27%). These findings suggest a possible development of host resistance to parasitism after successive infestations, interfering with tick development. No hemopathogen transmission occurred during the study. These results contribute to a better understanding of the *R. microplus* life cycle in buffaloes and provide useful information for the control and management of this ectoparasite.

Keywords: *Bubalus bubalis*, calves, ticks, resistance.

4.3. Introdução

A espécie *Bubalus bubalis* (búfalo-d'água), pertencente à família Bovidae, é originária da Ásia e amplamente distribuída em função de sua rusticidade e adaptabilidade. Atualmente, há mais de 202 milhões de búfalos no mundo, concentrados principalmente na Ásia (Minervino *et al.*, 2020; Faostat, 2022). Na América Latina, o Brasil lidera o crescimento da bubalinocultura, iniciada em 1890 com a introdução da raça Carabao, seguida pelas raças Mediterrâneo, Murrah e Jafarabadi, que consolidaram o rebanho nacional (Bernardes, 1997; Lourenço Júnior & Garcia, 2008). Atualmente, o país possui cerca de 1,7 milhão de búfalos, com maior concentração no Pará (683.604 cabeças), seguido por São Paulo (119.030) e Minas Gerais (85.418), o que reflete a resiliência da espécie em diferentes ambientes (ABCB, 2021; Silva *et al.*, 2014; IBGE, 2023).

A criação de bubalinos em sistemas multiespécies, favorece o compartilhamento de patógenos e seus vetores, potencializando os riscos para a

saúde pública, animal e impactando a cadeia produtiva. Esse tipo de interação em diversos ecossistemas exige uma abordagem de manejo integrado (Oliveira *et al.*, 2005; Motta-Giraldo *et al.*, 2014; Villanueva *et al.*, 2018). Embora os búfalos compartilhem semelhanças com os bovinos, há diferenças significativas, principalmente em aspectos relacionados à imunidade e resistência a doenças. Tornando-se necessário um conhecimento mais profundo sobre a saúde e os diferentes sistemas de produção dessa espécie no Brasil, especialmente devido à falta de dados disponíveis (Moaeen-Ud-Din & Bilal, 2015; Kandeepan *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2014).

Rhipicephalus microplus são ectoparasitos de ampla distribuição mundial que afetam a saúde animal e a pecuária. Conhecido como “carrapato-do-boi”, é a espécie predominante em búfalos d’água (Rocha *et al.*, 1969; Miranpuri, 1988; Gomes, 2007; Obregón *et al.*, 2010). Originária da Índia e introduzida nas Américas entre os séculos XVI e XVII, essa espécie adapta-se facilmente a regiões tropicais e subtropicais devido às condições climáticas favoráveis (Hoogstraal, 1985; Estrada-Peña & de la Fuente, 2014). Além de causar prejuízos econômicos diretos, como perdas estimadas em 3,24 milhões de dólares anuais no Brasil (Grisi *et al.*, 2014), é vetor de *B. bovis*, *B. bigemina* e *A. marginale*, agentes da Tristeza Parasitária Bovina, e *Theileria equi*, causador da Piroplasmose Equina (Uilenberg, 2006; Obregón *et al.*, 2018, 2019; Scoles & Ueti, 2015). O controle dessa espécie enfrenta desafios relacionados à resistência aos acaricidas, além de preocupações com a presença de resíduos de antiparasitários em produtos de origem animal (Githaka *et al.*, 2022; De Meneghi *et al.*, 2016).

Apesar disso, búfalos normalmente apresentam uma carga de infestação menor em comparação aos bovinos (Obregón *et al.*, 2010). Estudos experimentais confirmaram que *R. microplus* é capaz de completar seu ciclo de vida em búfalos, mas com eficiência reduzida (Benitez *et al.*, 2012). Esses dados sugerem que a resistência dos búfalos aos carrapatos é uma característica adquirida ao longo da vida, já que os bezerros apresentam uma maior sensibilidade à infestação do que búfalos adultos (Obregón *et al.*, 2020). Isso mostra a importância da integração do seu manejo sanitário em sistemas integrados com bovinos, tendo em vista que eles não apenas se comportam como hospedeiros definitivos para carrapatos, como podem funcionar como um reservatório para hemopatógenos (Obregón *et al.*, 2019).

O rebanho bubalino cresce exponencialmente no Brasil e no mundo e, muitas vezes, são criados com bovinos. Compreender as interações entre o carrapato *R. microplus* e os búfalos é crucial para entender como a resposta imunológica e o comportamento dos búfalos podem influenciar o ciclo de vida do parasito (Rodrigues *et al.*, 2017; Constantinoiu *et al.*, 2010). Portanto, investigar essas interações é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo e controle, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, onde *R. microplus* se estabelece com maior facilidade (Estrada-Peña & de la Fuente, 2014). Nesse contexto, o objetivo principal deste estudo foi descrever o ciclo de vida do carrapato *R. microplus* a partir de infestações experimentais sucessivas em bezerros bubalinos.

4.4. Material e Métodos

4.4.1. Considerações éticas

Para a infestação experimental dos animais com *R. microplus* e a observação da infestação natural, o protocolo experimental foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da EPAMIG, sob o número de protocolo 456/2023 (ANEXO I). Todos os procedimentos envolvendo os animais foram realizados em conformidade com as diretrizes de bem-estar animal e respeitaram as normas éticas vigentes.

4.4.2. Animais de estudo

Foram utilizados dois bezerros bubalinos, provenientes do cruzamento das raças Murrah e Mediterrâneo, com idades de 15 e 30 dias. Os animais, identificados como 237 e 249, respectivamente, foram doados por uma fazenda no município de Bom Despacho, na região Centro-Oeste de Minas Gerais. A seleção dos bezerros baseou-se na presença de infestação natural por *Rhipicephalus microplus*. A fim de evitar interferências durante o experimento, ambos foram previamente testados por PCR para os agentes da Tristeza Parasitária Bovina (TPB), sendo negativos nos exames moleculares para os três agentes. Nessa propriedade, os bezerros bubalinos eram manejados de forma semi-intensiva, permanecendo junto às mães apenas nos primeiros 15 dias de vida a pasto. Após esse período, eram separados e só voltavam a ter contato com as matrizes durante a ordenha, sendo mantidos em piquetes independentes e recebendo suplementação com concentrado. Os búfalos compartilhavam a sala de ordenha com bovinos, sendo submetidos a um programa

de controle parasitário baseado na aplicação de doramectina injetável. Contudo, o tratamento era realizado de forma coletiva por lote, e no momento em que foram doados para o estudo ainda não haviam recebido nenhuma aplicação antiparasitária.

4.4.3. Local de estudo

Todo o experimento foi conduzido e monitorado durante o segundo semestre de 2023. Inicialmente, os animais foram alojados em uma baia de alvenaria com piso cimentado, medindo 3 x 3 metros, localizada no Campo Experimental Santa Rita (EPAMIG). Essa estrutura proporcionava ventilação natural, evitava o contato com outros animais e não possuía telas de proteção. Nesse local, ocorreu a primeira infestação experimental do animal 237.

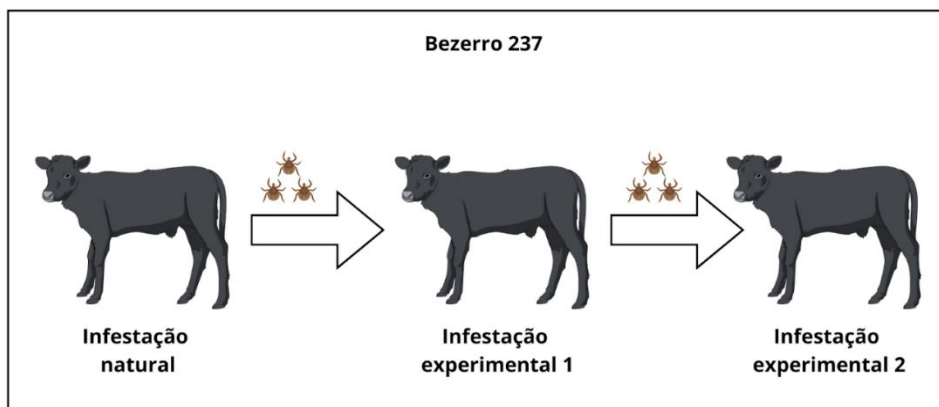
A segunda infestação experimental foi conduzida no galpão da Clínica de Ruminantes do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. Nessa fase, o animal permaneceu em uma baia cimentada de 4 x 4 metros, totalmente telada, o que impedia o contato com moscas, outros animais ou possíveis fontes externas de carrapatos.

4.4.4. Coleta e análise de carrapatos

As análises feitas durante a infestação natural não puderam ser concluídas no animal 249, pois ele foi a óbito. No entanto, seguiu-se a contabilização de teleóginas no outro bezerro (237) durante o período de desprendimento. Essas foram lavadas em água corrente e secadas com papel toalha, para posterior acondicionamento em estufa *Biochemical Oxygen Demand (BOD)* em temperatura de 26° C e Umidade Relativa (UR) de 85 ± 5%, durante 18 dias, para que pudessem realizar a oviposição. Após esse período, os ovos foram coletados e armazenados em seringas estéreis com a ponta cortada e vedadas com algodão hidrófilo, permanecendo em temperatura controlada na estufa por mais 18 dias, permitindo a eclosão das larvas utilizadas nas infestações experimentais posteriores, as quais permaneceram ali por pelo menos 15 dias.

O animal 249 que foi a óbito foi necropsiado, e fragmentos de órgãos como baço e fígado foram coletados para análise molecular de agentes da TPB.

Figura 1 - Esquema de recuperação de larvas a cada infestação do animal 237



Fonte: elaborado pelo autor (2025)

As infestações experimentais no bezerro 237 foram realizadas por duas técnicas simultaneamente: larvas livres pelo corpo e em mangas de malha (Soneshine & Roe, 2014). No total, foram liberadas 13.000 larvas. Aproximadamente 10.000 larvas, com 20 dias de vida e originadas de 500 mg de oviposição, foram distribuídas na região da cernelha do animal. Além disso, 3.000 larvas foram alocadas dentro das câmaras de malha, sendo duas câmaras em cada lado do animal. As larvas utilizadas em cada infestação foram provenientes da infestação anterior, assim como é demonstrado na Figura 1.

As análises realizadas durante o período parasitário seguiram a metodologia de Drumond *et al.* (1973), considerando os seguintes parâmetros: tempo para mudança de estágio evolutivo e tempo para o início do desprendimento das fêmeas ingurgitadas. Em ambas as infestações experimentais, os animais foram examinados diariamente até a completa ausência de machos adultos em seu corpo.

Para o período não parasitário, os parâmetros biológicos avaliados foram baseados na metodologia de Szabó (1995), com adaptações. Os parâmetros analisados incluíram: peso de fêmeas ingurgitadas, duração do período de pré-oviposição, peso de massa de ovos, taxa de recuperação de teleóginas (RT) e taxa de eclodibilidade larval.

A taxa de Eficiência de Conversão Reprodutiva da Fêmea Ingurgitada (ECRFI) foi calculada considerando a relação entre o peso da massa de ovos (PO) e o peso das fêmeas ingurgitadas (PF), conforme a fórmula: $PO \times 100 / PF$. A taxa de recuperação de teleóginas foi calculada pelo *número final de teleóginas recuperadas / número inicial de larvas infestantes* $\times 100$. A taxa de eclosão larval foi estimada 18

dias após a incubação dos ovos, com base na avaliação visual da proporção de ovos eclodidos em relação aos não eclodidos, conforme descrito por Figueiredo (2018).

4.4.5. Avaliação clínica

O animal 249 foi inspecionado e palpado durante a sua infestação natural, quando se optou pela remoção manual dos carrapatos para não comprometer infestações futuras. Além disso, o animal foi acompanhado diariamente por meio de avaliação de mucosas, linfonodos, turgor de pele e comportamento (Feitosa, 2025).

Já para o animal 237, foram realizadas coletas de sangue semanais, com as mesmas avaliações clínicas feitas no outro bezerro. O sangue coletado foi encaminhado ao laboratório PROTOVET para avaliação de Volume Globular (VG) e realização de análises moleculares para *A. marginale* e *Babesia* spp. Além do sangue, também foram coletadas amostras de fezes mensalmente para realização de exame coproparasitológico (Técnica de Gordon e Whitlock modificada por Ueno e Gonçalves 1998). Durante as infestações experimentais, também foram observados o comportamento dos carrapatos, incluindo o local de fixação e o padrão de dispersão.

4.4.6. Análises laboratoriais

4.4.6.1. Teste de Microhematócrito (Volume globular)

O sangue coletado em tubos com EDTA foi colocado em capilares para que a centrifugação fosse realizada no mesmo dia de coleta. Esses foram colocados adequadamente em uma Centrífuga Microhematócrito 211 (FANEM), com rotação de 12.000 g, durante 5 minutos e, em seguida, foi possível fazer a leitura com o auxílio de uma tabela de referência para microhematócrito, para avaliação de *status* de anemia (Nantulya, 1990).

4.4.6.2. Extração e Amplificação de DNA

A extração de DNA de todas as amostras de sangue coletadas durante o estudo, assim como fragmentos de órgãos, foi realizada utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification (PROMEGA), seguindo as recomendações do fabricante para 300 µL de sangue, assim como para amostras teciduais. O DNA extraído foi amplificado utilizando termociclador automático (Eppendorf Mastercycler® ou Bio-Rad T100 Thermal Cycler®). As reações de amplificação foram realizadas conforme

padronizado por Silveira *et al.* (2015), utilizando os iniciadores descritos por de la Fuente *et al.* (2008) e Silveira *et al.* (2012) para *A. marginale* (*mSP4*), e por Zahler *et al.* (2000) e Silveira *et al.* (2011) para *Babesia* spp. (18S rRNA).

4.4.7. Análise estatística

Os dados foram inicialmente submetidos a análise estatística descritiva. A normalidade das variáveis foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Para as variáveis que não apresentaram distribuição normal, como o peso das teleóginas e o peso das massas de ovos, foi aplicado o teste de Mann-Whitney. Por outro lado, a taxa de eclodibilidade, analisada em grupos conforme o dia de desprendimento das teleóginas e com distribuição normal, foi comparada utilizando o teste t de Student. O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% ($p < 0,05$).

4.5. Resultados

4.5.1. Infestação natural

O bezerro 249, com 30 dias de idade, e o bezerro 237, com 15 dias, chegaram ao Campo Experimental Santa Rita (EPAMIG) já apresentando infestação natural por *Rhipicephalus microplus*, confirmada no momento da triagem inicial. O bezerro 249 exibiu uma alta carga parasitária, com as teleóginas atingindo a fase de ingurgitamento seis dias após a chegada. Clinicamente, apresentou linfonodomegalia generalizada, áreas de alopecia, palidez generalizada de mucosas, prostração e redução na ingestão de água e alimento, tornando necessária a realização de fluidoterapia oral. No entanto, o animal não resistiu e foi a óbito oito dias após sua chegada (Figuras 2, 3 e 4).

Figura 2 – Infestação natural em bezerro 249



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 3 – Mucosas pálidas e desidratação (avaliados no dia 05/06/2023). (a) Mucosa oral, (b) Mucosa ocular



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 4 – Bezerro 249 após remoção manual de teleóginas no dia 05/06/2023, áreas com alopecia.



Fonte: Arquivo pessoal

Quadro 1 - Alterações clínicas observadas em cada animal por infestação

Alterações clínicas	BEZERRO 237			BEZERRO 249 (óbito)
	Infestação natural	Infestação Experimental 1	Infestação experimental 2	Infestação natural
↓ ingestão de alimento				x
↓ ingestão de água				x
Prostração				x
Prurido		x	x	
Alopecia	x	x		x
Desidratação	x			x
Mucosa hipocorada				x
Linfonodomegalia	x	x	x	x
Diarreia		x		
Média VG* (mín-máx)	35 (29-36)	36 (36-40)	36 (35-38)	-
Infecção cutânea secundária		x		

*Valor de referência de Volume Globular (VG) para bubalinos: de 37 a 66% (Fontes *et al.*, 2014)

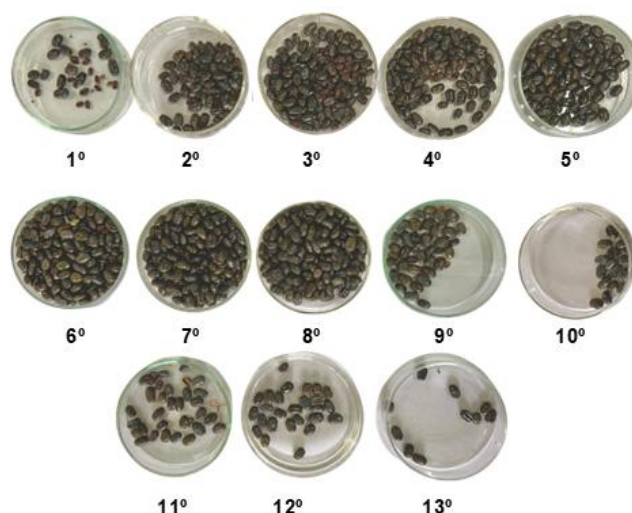
Fonte: elaborado pelo autor (2025)

No exame *post-mortem*, foram observadas intensa palidez de tecidos, distensão do rúmen devido ao fornecimento de soro oral, enfisema pulmonar e ausência de coágulos sanguíneos, evidenciando uma anemia severa. Durante a necropsia, foram coletadas 4.939 teleóginas ingurgitadas, 590 partenóginas e 271 machos. Amostras de baço e fígado foram negativas para *A. marginale*, *Babesia* spp.

em PCR. Assim, foi possível estabelecer que o óbito ocorreu em consequência da anemia severa, hipóxia tecidual e falência múltipla de órgãos, decorrente da espoliação sanguínea da elevada carga parasitária.

O animal 237 apresentou sinais de parasitismo mais brandos, com algumas ninfas detectadas nove dias após sua chegada. Durante o monitoramento, o VG foi reduzido de 36% para 29% nos dias modais, indicando risco de desenvolvimento de anemia. Para prevenir o agravamento do quadro, realizou-se a remoção manual das teleóginas, totalizando 1.005 espécimes recuperados em período de 13 dias (Figura 5). Além disso, os exames coproparasitológicos realizados nos dois primeiros meses evidenciaram ovos de *Toxocara* sp., o qual também expeliu alguns parasitos adultos de *T. vitulorum* pelas fezes. O animal não foi tratado, mas seguiu isolado de outros animais e com acompanhamento diário.

Figura 5 - Teleóginas recuperadas durante infestação natural do bezerro bubalino 237 desde o 1º ao 13º dia de desprendimento



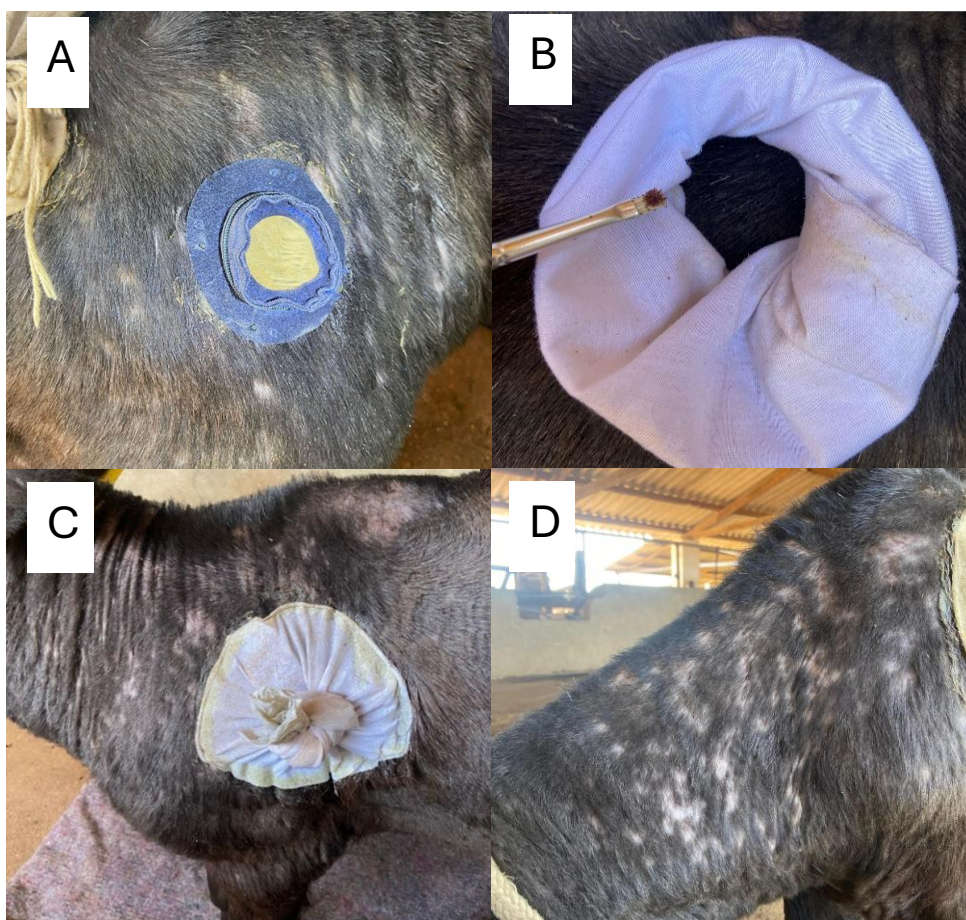
Fonte: Arquivo pessoal

4.5.2. Infestações experimentais

Ao iniciar a primeira infestação experimental, o bezerro 249 estava com dois meses e 23 dias de vida, ou seja, este teve um período de 69 dias de adaptação no local de estudo, o que foi suficiente para que a infestação natural finalizasse com sucesso e que as larvas ficassem prontas para a infestação. Durante a primeira infestação experimental apresentou alterações clínicas como, linfonodos pré-

escapulares mais facilmente palpáveis e notadamente aumentados de volume, prurido intenso, lesões cutâneas alopécicas de formato circular, com formação de crostas características de infecção fúngica, a qual foi confirmada como *Trichophyton* sp. por meio de cultura e isolamento realizado pelo Laboratório de Biologia Molecular e Micologia - LABIOMIC do DMVP da EV/UFMG (Figura 6). Além disso, foi observado um breve episódio de diarreia durante o período modal (21º ao 23º dia de infestação). O VG manteve-se relativamente estável, variando entre 36% e 40%, conforme demonstrado no Quadro 2.

Figura 6 – A e B: Câmaras de alimentação em bezerro 237 durante a primeira infestação experimental. C e D: Áreas de alopecia características de infecção fúngica (dermatofitose)



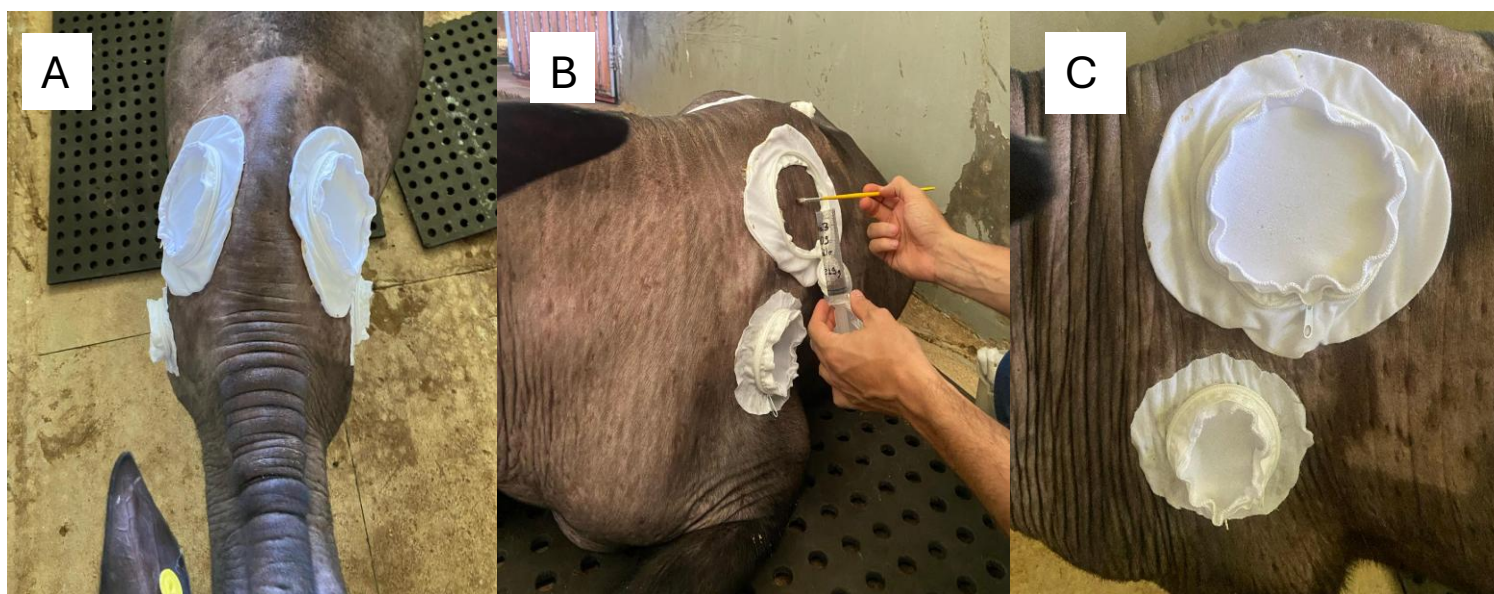
Fonte: Arquivo pessoal

O período de muda de larva para ninfa iniciou no 4º dia pós infestação, enquanto a muda de ninfa para adultos ocorreu a partir do 10º dia. Durante o experimento, foram recuperadas 429 teleóginas, com o desprendimento iniciado no 19º dia e finalizado no 30º dia de infestação. Já para os machos, foi observado que permaneceram no animal por mais dois dias após o desprendimento da última

teleógina (Tabela 1). Com relação à fase não-parasitária, as teleóginas apresentaram peso médio de 240 ± 70 mg e peso médio de oviposição de 118 ± 52 mg, resultando em um índice de produção de ovos de 45,83%. A taxa de eclodibilidade foi de $85 \pm 0,1\%$. O tempo médio entre o desprendimento das teleóginas e o início da oviposição foi de três dias, sendo observado que esse intervalo aumentou progressivamente para teleóginas que se desprenderam mais tardiamente. As últimas apresentaram período de pré-postura de cinco dias. O período entre o início da oviposição e a eclosão das larvas variou de 18 a 20 dias. A taxa de recuperação das teleóginas foi de 3,29% (Tabela 2).

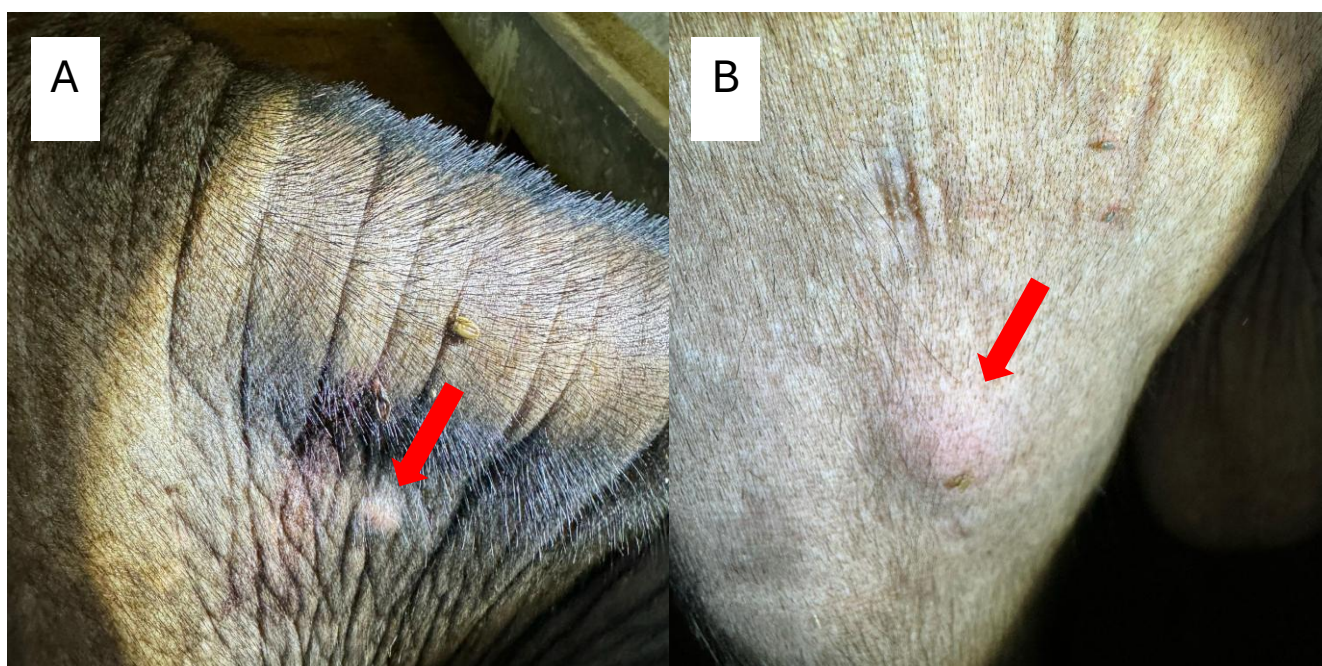
Após 52 dias do término da primeira infestação experimental, iniciou-se a segunda infestação experimental, na qual também foi observado o aumento dos linfonodos pré-escapulares e poplíteos, além de prurido intenso, o que fez com que o animal arrancasse todas as câmaras de alimentação. Além disso, houve desenvolvimento de áreas com inflamação intensa (vermelhidão, rubor e calor) e formação de pápulas nos locais com maior concentração de carrapatos (Figura 7 e 8), sugerindo uma hipersensibilidade tipo IV do subtipo IVd. Entretanto, o VG permaneceu estável, variando entre 35% e 38% (Quadro 1).

Figura 7 – A: câmaras de alimentação de ambos os lados do animal 237 durante a segunda infestação experimental. B: momento do início da segunda infestação experimental. C: câmaras de alimentação do lado esquerdo do animal 237



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 8 – A e B: pápulas no couro provenientes da segunda infestação experimental no bezerro 237.



Fonte: Arquivo pessoal

O período de muda de larva para ninfa teve início no 5º dia após a infestação. Observou-se que, após o primeiro dia de infestação, muitas larvas mudaram de local de parasitismo. Já a muda de ninfa para adultos ocorreu no 12º dia, sendo constatado que algumas ninfas foram encontradas mortas. Um total de 31 teleóginas foi recuperado durante esse experimento, com o desprendimento iniciando no 18º dia e finalizando no 33º dia após a infestação. Assim como na primeira infestação, os machos também permaneceram por mais dois dias após o término de desprendimento das fêmeas (Tabela 1). Na fase não-parasitária, o peso médio das teleóginas foi de 236 ± 73 mg, enquanto o peso médio de oviposição foi de 65 ± 60 mg, resultando em um índice de conversão de ovos de 26,08%. A taxa de eclodibilidade foi de $76 \pm 0,13\%$. O intervalo entre o desprendimento das teleóginas e o início da oviposição variou de dois a seis dias (média três dias), enquanto o período entre o início da oviposição e a eclosão das larvas foi de 18 a 23 dias. A taxa de recuperação das teleóginas foi de 0,27% (Tabela 2).

Tabela 1 - Comparação de parâmetros reprodutivos no período parasitário de cada infestação experimental feita com *R. microplus* em bezerro bubalino (237).

Medidas (dia pós infestação)	1ª infestação	2ª infestação
Larva – Nínfa	4º	5º
Nínfa – Adulto	10º	12º
Início / Fim desprendimento	19º / 30º	18º / 37º
Parasitismo macho	32º	39º

Fonte: elaborado pelo autor (2025)

Tabela 2 - Comparação de parâmetros reprodutivos no período não parasitário de cada infestação experimental feita com *R. microplus* em bezerro bubalino (237).

Medidas	1ª infestação	2ª infestação
Peso Fêmeas (mg)	240 ± 70	236 ± 73
Peso Ovos (mg)	118 ± 52	65 ± 60
Taxa de Eficiência de Conversão Reprodutiva (%)	45,83	26,08
Nº Teleóginas	429	31
Taxa de recuperação de teleóginas (%)	3,29	0,27
Taxa de eclodibilidade (%)	85 ± 0.1	76 ± 0.13

Fonte: elaborado pelo autor (2025)

Em ambas as infestações experimentais, foi observado que quanto maior o tempo para o desprendimento das teleóginas, menor foi o peso dessas fêmeas e a taxa de eclodibilidade das suas larvas. Além disso, o sangue coletado semanalmente durante ambas as infestações foi analisado por meio de teste de PCR, e os resultados foram negativos para *A. marginale* e *Babesia* spp. Esses dados indicam que não houve transmissão de hemopatógenos durante o período do estudo.

Ao comparar os resultados das duas infestações, observou-se que a média de peso de fêmeas ingurgitadas não apresentou diferenças significativas ($p = 0,578$). No entanto, houve diferença significativa para peso de oviposição, com p-valor inferior a 0,001, demonstrando que a oviposição das teleóginas obtidas na segunda infestação foi menor do que na primeira. Além disso, não foi encontrada diferença significativa para eclodibilidade ($p = 0,226$).

Além disso, observou-se prurido intenso, formação de pústulas nos locais de fixação dos carrapatos e remoção das câmaras de malha. Esses sinais clínicos são compatíveis com uma reação de hipersensibilidade (Tipo IV), particularmente com o

subtipo IVd, conforme descrito por Dispenza (2019). Por fim, após o terceiro mês que o animal esteve no local do estudo (UFMG), todos os exames coproparasitológicos foram negativos.

Tabela 3 - Comparação de parâmetros reprodutivos medidos em carrapatos fêmeas ingurgitados de *R. microplus* infestando um búfalo neste experimento e em Benitez *et al.* (2012).

Medidas	Presente estudo		Benitez <i>et al.</i> , 2012	
	1 ^a infestação	2 ^a infestação	Bubalino	Bovino
Peso médio da teleóginas (mg)	240 ± 70 ^a	236 ± 73 ^a	268 ± 40	251 ± 12
Peso médio da oviposição (mg)	118 ± 52 ^b	65 ± 60 ^c	-	-
Eficiência de Conversão Reprodutiva da Fêmea Ingurgitada (%)	45,83	26,08	-	-
Teleóginas recuperadas	429	31	540	1.200
Taxa de recuperação das teleóginas (%)	3,29	0,27	5,4	12
Taxa de eclodibilidade (%)	85 ± 0.1 ^a	76 ± 0.13 ^a	78.25 ± 4.78	68.83 13.86

*Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0.05$)

Fonte: dados do autor (2025) e Benitez *et al.* (2012).

4.6. Discussão

Os animais utilizados neste estudo eram provenientes de uma fazenda localizada no município de Bom Despacho, Minas Gerais, que abrigava diversas espécies de animais domésticos, incluindo bovinos, equinos e cães. Historicamente, a propriedade dedicou-se à criação de bovinos da raça Gir e Girolando e já apresentavam desafios no controle de carrapatos, o que contribuiu para o cenário atual com búfalos. No período em que o experimento foi realizado, os bovinos presentes na fazenda eram principalmente da raça Gir, conhecida por apresentar maior resistência natural à infestação por *Rhipicephalus microplus*. Essa característica zootécnica contribuiu para que o controle acaricida adotado na propriedade fosse menos rigoroso para os bovinos.

Os bubalinos e bovinos compartilhavam a sala de ordenha, e os pastos eram dispostos de forma contígua, separados apenas por cercas. Além da elevada carga de *R. microplus* observada nos bezerros bubalinos, foi identificada uma infestação

moderada por *Amblyomma sculptum* na categoria acima de 12 meses de idade. Esse achado pode estar relacionado à presença de equinos na propriedade, uma vez que esses animais são hospedeiros preferenciais dessa espécie de carrapato.

A causa da morte do bezerro 249 foi atribuída à anemia hemorrágica, diagnosticada com base em avaliações clínicas e confirmada pela necropsia. Além disso, os exames complementares não identificaram agentes causadores de anemia transmitidos por carrapatos como *Babesia* spp. e *A. marginale*. O bezerro naturalmente infestado na fazenda de origem, estava em período de adaptação ambiental e alimentar, fatores que podem ter exacerbado o estresse e a vulnerabilidade. A infestação intensa por *R. microplus* pode ser responsável por quadros graves de anemia hemorrágica, pois durante o período de infestação, uma teleóquina pode ingerir até 0,5 ml de sangue (EMBRAPA, 2015). No bezerro 249 foram recuperadas 4.939 teleóquinas em um dia, correspondendo a uma perda aproximada de 2,5 litros em menos de três dias, que representa quase metade do volume sanguíneo do bezerro com peso de 50 kg. Este parece ser o primeiro relato de morte de bezerro bubalino, provocada por espoliação sanguínea, embora Guizelini *et al.* (2023) tenham descrito casos semelhantes em bezerros bovinos, sob condições climáticas específicas.

De acordo com o estudo realizado por Fontes *et al.* (2014), o valor médio do hematócrito em bubalinos com até oito meses de idade é de $39,62 \pm 4,01$. Com base nesse parâmetro, uma redução superior a cinco unidades em um período de sete dias indicou um risco significativo caso a infestação natural do animal 237 persistisse sem intervenções.

Os resultados deste estudo evidenciam diferenças nas dinâmicas das duas infestações experimentais de *R. microplus* em bezerros bubalinos, nas fases parasitárias e não-parasitárias. Em comparação a outros estudos, como o de Senbill *et al.* (2018), que investigou a infestação de *R. microplus* em coelhos, os achados indicam padrões semelhantes quanto às limitações impostas por hospedeiros não preferenciais, com destaque para a menor taxa de recuperação de teleóquinas. Esse achado pode estar relacionado a uma menor taxa de fixação das larvas, possivelmente influenciada por respostas comportamentais do hospedeiro, como lambertura e prurido, além de uma potencial resposta inflamatória local que dificulta o processo de aderência. Consequentemente, essas condições podem resultar em maior mortalidade dos carrapatos ao longo do ciclo, comprometendo a eficiência

parasitária. Ademais, verificou-se um período de oviposição prolongado, além de menores pesos de massa de ovos e de fêmeas ingurgitadas.

Os períodos de muda entre os estágios de desenvolvimento dos espécimes obtidos nas duas infestações permaneceram dentro dos parâmetros esperados para *Rhipicephalus microplus* em bovinos, conforme descrito por Gonzales *et al.* (1974). No entanto, na segunda infestação, as mudas de ninfa para adultos foram mais tardias em relação à primeira, possivelmente devido à resistência adquirida pelo hospedeiro bubalino. Estudos em bovinos, hospedeiros preferenciais de *R. microplus* (Constantinoiu *et al.*, 2010; 2018), mostram que o sistema imunológico é capaz de reconhecer antígenos salivares do carrapato, resultando em imunidade parcial e redução da carga parasitária em infestações subsequentes. Em búfalos, que não são hospedeiros preferenciais dessa espécie, é possível que a imunidade local seja mais facilmente induzida, ressaltando a necessidade de estudos comparativos para compreender as particularidades dessa interação hospedeiro-parasito.

Neste estudo, o búfalo demonstrou uma possível resposta imunológica adquirida progressiva frente à infestação por *R. microplus*. A cada novo desafio, observou-se um aumento da hipersensibilidade cutânea, caracterizado por prurido intenso, formação de pústulas, inflamação local e migração das larvas. Esses achados são compatíveis com uma reação de hipersensibilidade tipo IV, especificamente do subtipo IVd, mediada por linfócitos T CD4⁺ que secretam CXCL-8 (IL-8) e promovem o recrutamento de neutrófilos, resultando em inflamação estéril e pustulosa (Dispenza, 2019). Essa resposta parece ter contribuído para a redução na recuperação de teleóginas e para a diminuição do peso da oviposição, comprometendo a eficiência alimentar e reprodutiva do ectoparasito ao longo das infestações.

Apesar dessa resposta inflamatória, os carrapatos possuem mecanismos eficazes para evadir o sistema imune do hospedeiro e garantir o sucesso do repasto sanguíneo. A saliva de *R. microplus* contém moléculas bioativas como vasodilatadores, anticoagulantes, inibidores da agregação plaquetária e proteínas anti-inflamatórias, que facilitam o repasto sanguíneo e dificultam a detecção imunológica (Ali *et al.*, 2022; Kitsou *et al.*, 2021). Além disso, proteínas ligadoras de imunoglobulinas (IGBPs) presentes na saliva são capazes de capturar e neutralizar anticorpos do hospedeiro (Leal & Ferreira, 2021). Isso poderia explicar porque, mesmo em hospedeiros previamente expostos, espécimes conseguiram alcançar a fase

adulta, ainda que em menor proporção, como observado no estudo de Vargas-Hernandez *et al.* (2023) ao infestar coelhos com *R. microplus*.

A resposta imunológica do búfalo observada neste estudo se aproxima, em diversos aspectos, do perfil descrito para *Bos indicus*, espécie bovina reconhecidamente mais resistente ao carrapato. Segundo Piper *et al.* (2009), bovinos *B. indicus* desenvolvem uma resposta imune predominantemente mediada por células T, com expressão gênica regulada e baixa inflamação local. Isso contrasta com *Bos taurus*, que apresenta uma resposta inflamatória exacerbada desde a primoinfecção, caracterizada por forte infiltração de eosinófilos, liberação de histamina e ativação do complemento (Schleger *et al.*, 1976; Kemp *et al.*, 1983). Piper *et al.* (2010) destacam que essa inflamação crônica em *B. taurus*, embora intensa, pode paradoxalmente favorecer o parasito ao aumentar a permeabilidade vascular e a disponibilidade de fluidos teciduais. Portanto, neste estudo, a resposta inflamatória se intensificou de forma gradual ao longo das infestações, sugerindo um componente adquirido e adaptativo, mais coerente com o modelo observado em *B. indicus*.

A menor recuperação de teleóginas e os baixos índices de oviposição observados neste estudo são compatíveis com os relatos de outros trabalhos que utilizaram hospedeiros não preferenciais de *R. microplus*. Exemplos da literatura sobre *R. microplus* demonstram essa tendência: Daemon *et al.* (1998) recuperaram apenas 3,7% em cabras; Franque *et al.* (2007) e (2009) reportaram taxas de 0,42% em cães e de 0,9% a 1,8% em cavalos, respectivamente; Do Amaral *et al.* (2012) encontraram 10,69% e 4,88% em infestações em orelhas e dorso de coelhos; e Ma *et al.* (2016) relataram 11%, 0,47% e 5,5% em bovinos, ovinos e coelhos, respectivamente. A taxa mais alta, de 33,3%, foi observada por Vargas-Hernandez *et al.* (2023) em coelhos. A comparação com esses modelos reforça a hipótese de que os búfalos podem apresentar respostas comportamentais e imunológicas suficientes para interferir no ciclo do carrapato, ainda que permitam a sua conclusão.

Durante a primeira infestação experimental, a queda da última teleógina ingurgitada ocorreu sete dias antes em comparação à segunda infestação, o que poderia estar relacionado à dificuldade em realizar o repasto sanguíneo. Observou-se que quanto maior o tempo necessário para o desprendimento das teleóginas, menor foi o peso dessas fêmeas e a taxa de eclodibilidade das larvas, resultados que corroboram os achados de Bennet (1974), ao relatar que a eficiência alimentar está

diretamente relacionada à produção e maturação dos ovos. O peso médio das teleóginas obtidas da primeira e da segunda infestação experimental permaneceu dentro dos limites descritos para outros hospedeiros não preferenciais, como em caprinos, por Prata *et al.* (1999). Porém, foi consideravelmente menor do que o estudo de Ma *et al.* (2016) em bovinos. Todavia, o peso de teleóginas alimentadas em búfalos observado por Obregón *et al.* (2020), foi aparentemente menor (150 ± 28 mg), o que pode estar relacionado ao fato delas terem sido removidas manualmente do hospedeiro, portanto antes de completarem o repasto sanguíneo, e estarem infectadas por hemoparasitos.

Na segunda infestação, foi observada a migração ou o desprendimento precoce de larvas fixadas já no segundo dia após a infestação, o que foi discutido por Tatchell & Moorhouse (1968) sobre hospedeiros que são submetidos a infestações repetidas podem desenvolver resistência, provocar o aumento do período de alimentação e da mortalidade das ninfas. A maior migração das larvas observada no início da segunda infestação, também pode ter contribuído para a menor eficiência parasitária, já que essa movimentação eleva o gasto energético dos carrapatos e reduz o tempo disponível para alimentação, como demonstrado por Rodrigues *et al.* (2017). Comportamentos semelhantes foram descritos em outros estudos (Bennet, 1974; Senbill *et al.*, 2018), reforçando que a adaptação do carrapato ao hospedeiro influencia diretamente a duração e a eficiência do ciclo reprodutivo.

Apesar das diferenças entre as infestações, as taxas de eclodibilidade das larvas permaneceram dentro dos limites relatados por Senbill *et al.* (2018), indicando que, mesmo sob condições desfavoráveis de alimentação, a viabilidade dos ovos pode ser preservada. No entanto, o índice de produção de ovos (peso da teleógina/peso dos ovos) foi significativamente inferior ao descrito para fêmeas alimentadas em bovinos (Senbill *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2016), o que reflete as limitações nutricionais impostas pelo hospedeiro não preferencial. Esses resultados sugerem que, embora o peso de fêmea ingurgitada e a eclodibilidade não tenham apresentado variações significativas, o peso da oviposição foi afetado pela ordem de infestação, com a segunda resultando em valores mais baixos.

Os resultados obtidos também reforçam que os búfalos, principalmente os animais mais jovens, se comportam como hospedeiros competentes para *R. microplus*, embora apresentem características que comprometam a eficiência alimentar do carrapato, como observado por Rodrigues *et al.* (2017), ao relatar que

certos hospedeiros podem não permitir a manutenção da população do ciclo de vida de ixodídeos. Apesar de nem todos os carrapatos terem conseguido completar o repasto e a muda em diferentes hospedeiros, os períodos de muda observados neste estudo se mantiveram dentro dos intervalos relatados por Nuñez *et al.* (1997) em bovinos e Benitez *et al.* (2012) em bubalinos. Esse resultado sugere que o ciclo biológico do carrapato apresenta uma adaptabilidade considerável a diferentes hospedeiros, corroborando a ideia de que o carrapato consegue ajustar seu desenvolvimento mesmo em condições variadas.

A ausência de hemopatógenos neste estudo foi um aspecto fundamental para evitar interferências na biologia de *R. microplus*, como a oviposição, que pode ser afetada por causarem a destruição das células basófilas, uma importante fonte de proteína vitelínica extra ovariana (Ristic, 1988). Essa constatação permitiu avaliar com maior precisão a sua dinâmica populacional, demonstrando a capacidade do búfalo em sustentar a população do carrapato por algumas gerações, mesmo na ausência de bovinos, seu hospedeiro preferencial. No entanto, a viabilidade dessa população a longo prazo dependerá da resistência dos búfalos às infestações e da capacidade de adaptação do carrapato a esse hospedeiro ao longo do tempo. Assim, embora seja possível, a dinâmica exata do ciclo de vida de *R. microplus* em bubalinos ainda depende de outras variáveis biológicas e ambientais.

No decorrer deste estudo, algumas limitações foram observadas como: a não realização da coleta de sangue do animal 249 que foi ao óbito, impossibilitou a obtenção de informações adicionais por meio de exames hematológicos. Esses dados poderiam ter sido utilizados para correlacionar os achados clínicos de anemia com parâmetros laboratoriais mais específicos. Além disso, a morte desse bezerro reduziu o tamanho amostral disponível para as infestações experimentais, restando apenas um animal. Por fim, durante a segunda infestação, observou-se uma reação de hipersensibilidade, o que provavelmente levou à remoção das câmaras de alimentação pelo animal. Portanto, apesar de os carrapatos terem conseguido completar seu ciclo e gerar descendentes, nossos resultados sugerem que a perpetuação de várias gerações em um rebanho de búfalos pode ser limitada.

4.7. Conclusão

Este estudo demonstra que *R. microplus* é capaz de completar seu ciclo de vida em bezerros bubalinos, com o parasitismo podendo ser fatal devido à espoliação

sanguínea. Observou-se também que infestações sucessivas podem resultar em uma diminuição gradual do número de carrapatos adultos e do peso de oviposição das fêmeas.

4.8. Referências

ABCB – Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (2021). Disponível em: <https://bufalo.com.br/o-bufalo/>. Acesso em 01 de março de 2024.

Ali, A., Zeb, I., Alouffi, A., Zahid, H., Almutairi, M. M., Ayed Alshammari, F., Alrouji, M., Termignoni, C., Vaz, I. D. S., Jr, & Tanaka, T. (2022). Host Immune Responses to Salivary Components - A Critical Facet of Tick-Host Interactions. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 809052. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.809052>

Benitez, D., Cetrá, B., & Florin-Christensen, M. (2012). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks can complete their life cycle on the water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Journal of Buffalo Science*, 1(2).

Bennett, G.F. (1974) Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae) 1. influence of the tick size on egg production. *Acarologia*, 16, 52–61.

Bernardes, O. (2007) Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. *Rev Bras. Reprod Anim* 31(3): 293-298

Constantinoiu, C. C., Jackson, L. A., Jorgensen, W. K., Lew-Tabor, A. E., Piper, E. K., Mayer, D. G., Venus, B., & Jonsson, N. N. (2010). Local immune response against larvae of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. *International journal for parasitology*, 40(7), 865–875. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.01.004>

Constantinoiu, C., Lew-Tabor, A., Jackson, L., Jorgensen, W., Piper, E., Mayer, D., Johnson, L., Venus, B. and Jonsson, N. (2018) Local immune response to larvae of *Rhipicephalus microplus* in Santa Gertrudis cattle. *Parasite Immunology*, 40(4), e12515.

Daemon, E., Prata, M. C. A., & Faccini, J. L. H. (1998). Goats as alternative hosts of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 7, 123-128.

de la Fuente, J., Blouin, E. F., Manzano-Roman, R., Naranjo, V., Almazán, C., Pérez de la Lastra, J. M., Zivkovic, Z., Massung, R. F., Jongejan, F., & Kocan, K. M. (2008). Differential expression of the tick protective antigen subolesin in *Anaplasma marginale*- and *A. phagocytophilum*-infected host cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1149, 27–35. <https://doi.org/10.1196/annals.1428.056>

De Meneghi, D., Stachurski, F., & Adakal, H. (2016). Experiences in Tick Control by Acaricide in the Traditional Cattle Sector in Zambia and Burkina Faso: Possible Environmental and Public Health Implications. *Frontiers in public health*, 4, 239. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00239>.

Dispenza, M. C. (2019, November). Classification of hypersensitivity reactions. In *Allergy & Asthma Proceedings* (Vol. 40, No. 6).

do Amaral, M. A., Prata, M. C., Daemon, E., & Furlong, J. (2012). Biological parameters of cattle ticks fed on rabbits. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 21(1), 22–27. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612012000100005>

Drummond, R. E. A., Ernst, S. E., Trevino, J. L., Gladney, W. J., & Graham, O. H. (1973). *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. *Journal of economic entomology*, 66(1), 130-133.

Embrapa (2015). Infestação de carrapatos em bovinos aumenta nesta época do ano. *Embrapa*. <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/8331361/infestacao-de-carrapatos-em-bovinos-aumenta-nesta-epoca-do-ano>

Estrada-Peña, A., & de la Fuente, J. (2014). The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral research*, 108, 104–128. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.05.016>

Feitosa, F. L. F. (2025). Exame físico geral ou de rotina. In F. L. F. Feitosa (Org.), *Semiologia veterinária: A arte do diagnóstico* (5ª ed., cap. 4). Rio de Janeiro: Roca.

Ferreira Leal, B., & Sanchez Ferreira, C. A. (2021). Ticks and antibodies: May parasite density and tick evasion influence the outcomes following immunization protocols?. *Veterinary parasitology*, 300, 109610. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109610>

Figueiredo, A., Agnolon, I. C., Lopes, L. G., Giglioti, R., & de Souza Chagas, A. C. (2018). Comparative study of hatching estimation methods of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* eggs. *Veterinary parasitology*, 264, 35–38. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.10.015>

Fontes D.G., Monteiro M.V.B., Jorge E.M., Oliveira C.M.C., Ritter R.A., Barbosa J.D., Silva Filho E. & Monteiro F.O.B. (2014). Hematologic and biochemical profile of buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Eastern Amazonia. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(Supl.1):57-63.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2022). FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/>

Franque, M. P., Santos, H. A., Linarez, F. F. M., & Massard, C. L.. (2009). Infestação experimental de equinos por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Ciência Rural*, 39(7), 2117–2122. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000700025>

Franque, M. P., Santos, H. A., Silva, G. V., Tajiri, J. T., & Massard, C. L. (2007). Biological characteristics of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on dog under experimental infestation. *Brazilian journal of veterinary parasitology* 16(4), 238–242. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612007000400011>

Githaka, N. W., Kanduma, E. G., Wieland, B., Darghouth, M. A., & Bishop, R. P. (2022). Acaricide resistance in livestock ticks infesting cattle in Africa: Current status and

potential mitigation strategies. *Current research in parasitology & vector-borne diseases*, 2, 100090. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2022.100090>

Gomes, R. A. (2007). Resposta Imune-humoral de búfalos (*Bubalus bubalis*) infectados naturalmente por *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*. [Dissertação]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista.

Gonzales, J. C.; Silva, N. R.; & Wagner, E. M. (1974). O ciclo parasitário do *Boophilus microplus* em bovinos estabulados. *Arquivos da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS*, v.2. 25-34 p.

Grisi, L., Leite, R. C., Martins, J. R., Barros, A. T., Andreotti, R., Cançado, P. H., León, A. A., Pereira, J. B., & Villela, H. S. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Brazilian journal of veterinary parasitology*, 23(2), 150–156. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612014042>

Guizelini C.C., Borges D.G.L., Borges F.A., Lopes W.D.Z., Pupin R.C. & Lemos R.A.A. (2023). Natural infestation by ticks as cause of death in beef cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 43:e07373.

Hoogstraal, H. (1985). Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Advances in parasitology*, 24, 135-238.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IBGE (2023). Rebanho Bubalino no Brasil. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bubalinos/br>. Acesso em: 9 jan. 2025.

Kemp, D. H., Pearson, R. D., Gough, J. M., & Willadsen, P. (1989). Vaccination against *Boophilus microplus*: localization of antigens on tick gut cells and their interaction with the host immune system. *Experimental & applied acarology*, 7(1), 43–58. <https://doi.org/10.1007/BF01200452>

Kitsou, C., Fikrig, E., & Pal, U. (2021). Tick host immunity: vector immunomodulation and acquired tick resistance. *Trends in immunology*, 42(7), 554–574. <https://doi.org/10.1016/j.it.2021.05.005>

Lourenço Júnior, J. de B., & Garcia, A. R. (2008). Panorama da bubalinocultura na Amazônia. In *Anais do 1º Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia: Meio ambiente e pecuária*. Belém, PA: FAEPA; Instituto Frutal; SEBRAE-PA. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/409969>

Ma, M., Chen, Z., Liu, A., Ren, Q., Liu, J., Liu, Z., Li, Y., Yin, H., Guan, G., & Luo, J. (2016). Biological Parameters of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) Fed on Rabbits, Sheep, and Cattle. *The Korean journal of parasitology*, 54(3), 301–305. <https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.3.301>

Minervino, A.H.H.; Oliveira, M.; Vecchio, D.; Borghese, A. (2020) *Bubalus bubalis*: um conto. *Frente. Veterinário Sci.*, 7, 570413.

Miranpuri G. S. (1988). Ticks parasitising the Indian buffalo (*Bubalus bubalis*) and their possible role in disease transmission. *Veterinary parasitology*, 27(3-4), 357–362. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(88\)90050-7](https://doi.org/10.1016/0304-4017(88)90050-7)

Moaeen-ud-Din, M., & Bilal, G. (2015). Sequence diversity and molecular evolutionary rates between buffalo and cattle. *Journal of animal breeding and genetics = Zeitschrift fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie*, 132(1), 74–84. <https://doi.org/10.1111/jbg.12100>

Motta-Giraldo, J.L.; Oliveira, J.A.; Waltero-García, I.; Abeledo, M.A. (2014). Prevalencia de Anticuerpos a *Brucella abortus*, *Leptospira* sp. y *Neospora caninum* En Hatos Bovinos y Bubalinos En El Departamento de Caquetá, Colômbia. *Rev. Salud. Anim.* 36, 80–89.

Mudenda, L., Pierlé, S. A., Turse, J. E., Scoles, G. A., Purvine, S. O., Nicora, C. D., Clauss, T. R., Ueti, M. W., Brown, W. C., & Brayton, K. A. (2014). Proteomics informed by transcriptomics identifies novel secreted proteins in *Dermacentor andersoni* saliva. *International journal for parasitology*, 44(13), 1029–1037. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.07.003>

Nantulya V. M. (1990). Trypanosomiasis in domestic animals: the problems of diagnosis. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 9(2), 357–367. <https://doi.org/10.20506/rst.9.2.507>

Núñez, J. L., ME, M. C., & Moltedo, H. L. (1982). *Boophilus microplus*. La garrapata comun del ganado vacuno. Editorial Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires 1997; pp. 3-7

Obregón, D., Cabezas-Cruz, A., Armas, Y., Silva, J. B., Fonseca, A. H., André, M. R., Alfonso, P., Oliveira, M. C. S., Machado, R. Z., & Corona-González, B. (2019). High co-infection rates of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* in water buffalo in Western Cuba. *Parasitology research*, 118(3), 955–967. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-06194-6>

Obregón, D., Corona, B. G., de la Fuente, J., Cabezas-Cruz, A., Gonçalves, L. R., Matos, C. A., Armas, Y., Hinojosa, Y., Alfonso, P., Oliveira, M. C. S., & Machado, R. Z. (2018). Molecular evidence of the reservoir competence of water buffalo (*Bubalus bubalis*) for *Anaplasma marginale* in Cuba. *Veterinary parasitology, regional studies and reports*, 13, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.06.007>

Obregón, D., Corona-González, B., Díaz-Sánchez, A. A., Armas, Y., Roque, E., de Sena Oliveira, M. C., & Cabezas-Cruz, A. (2020). Efficient Transovarial Transmission of *Babesia* Spp. in *Rhipicephalus microplus* Ticks Fed on Water Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(4), 280. <https://doi.org/10.3390/pathogens9040280>

Obregón, D., Corona-González, B., Díaz-Sánchez, A. A., Armas, Y., Roque, E., de Sena Oliveira, M. C., & Cabezas-Cruz, A. (2020). Efficient transovarial transmission of *Babesia* spp. in *Rhipicephalus microplus* ticks fed on water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Pathogens*, 9(4), 280.

Obregón, D., Rodríguez Diego, J. G., Roque, E., & Alemán, Y. (2010). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) en búfalo (*Bubalus bubalis*), en Cuba. *Revista de Salud Animal*, 32(2), 132-134.

Oliveira, A.L. (2005). Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. *Rev Bras Reprod Anim* 29 (2):122-134

Piper, E. K., Jackson, L. A., Bielefeldt-Ohmann, H., Gondro, C., Lew-Tabor, A. E., & Jonsson, N. N. (2010). Tick-susceptible *Bos taurus* cattle display an increased cellular response at the site of larval *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* attachment, compared with tick-resistant *Bos indicus* cattle. *International journal for parasitology*, 40(4), 431–441. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.09.009>

Piper, E. K., Jonsson, N. N., Gondro, C., Lew-Tabor, A. E., Moolhuijzen, P., Vance, M. E., & Jackson, L. A. (2009). Immunological profiles of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 16(7), 1074–1086. <https://doi.org/10.1128/CVI.00157-09>

Prata, M.C.A., Faccini, J. L. H., & Daemon, E. (1999). Biologia da fase não parasitária de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARIXODIDAE) de origem caprina. *Rev. Bras. Parasito. Vet*, 8(2), 107-111.

Ristic, M. (1988). *Babesiosis of Domestic Animals and Man* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351070027>

Rocha, U. F., Serra, O. P., Grock, R., & Serra, R. G. (1969). Natural infestation of buffaloes-*Bubalus bubalis* in the States of Sao Paulo and Minas Gerais, Brazil, by *Boophilus microplus* and *A. nitens*.

Schleger, A. V., Lincoln, D. T., McKenna, R. V., Kemp, D. H., & Roberts, J. A. (1976). *Boophilus microplus*: cellular responses to larval attachment and their relationship to host resistance. *Australian journal of biological sciences*, 29(5-6), 499–512. <https://doi.org/10.1071/bi9760499>

Schwarz, A., Tenzer, S., Hackenberg, M., Erhart, J., Gerhold-Ay, A., Mazur, J., Kuharev, J., Ribeiro, J. M., & Kotsyfakis, M. (2014). A systems level analysis reveals transcriptomic and proteomic complexity in *Ixodes ricinus* midgut and salivary glands during early attachment and feeding. *Molecular & cellular proteomics : MCP*, 13(10), 2725–2735. <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.039289>

Scoles, G.A., & Ueti, M.W., (2015). Vector ecology of equine piroplasmiasis. *Annu. Rev. Entomol.* 60, 561–580.

Senbill, H., Hazarika, L. K., Baruah, A., Borah, D. K., Bhattacharyya, B., & Rahman, S. (2018). Life cycle of the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini 1888 (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Systematic and Applied Acarology*, 23(6), 1169. doi:10.11158/saa.23.6.12

Silva, C. L. G., Cunha, D. W., Daemon, E., & Faccini, J. L. H. (1996). Efeito do número de larvas de *Boophilus microplus* {Can., 1887}{Acari: Ixodidae) sobre a recuperação de fêmeas ingurgitadas em coelhos. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 3(2).

Silva, J. B., Cabezas-Cruz, A., Fonseca, A. H., Barbosa, J. D., & de la Fuente, J. (2014). Infection of water buffalo in Rio de Janeiro Brazil with *Anaplasma marginale*

strains also reported in cattle. *Veterinary parasitology*, 205(3-4), 730–734. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.09.009>

Silveira, J. A., Rabelo, E. M., & Ribeiro, M. F. (2011). Detection of *Theileria* and *Babesia* in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in the State of Minas Gerais, Brazil. *Veterinary parasitology*, 177(1-2), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.044>

Silveira, J. A., Rabelo, E. M., & Ribeiro, M. F. (2012). Molecular detection of tick-borne pathogens of the family Anaplasmataceae in Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer, 1814) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*, Illiger, 1815). *Transboundary and emerging diseases*, 59(4), 353–360. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01278.x>

Silveira, J. A., Valente, P. C., Paes, P. R., Vasconcelos, A. V., Silvestre, B. T., & Ribeiro, M. F. (2015). The first clinical and laboratory evidence of co-infection by *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia canis* in a Brazilian dog. *Ticks and tick-borne diseases*, 6(3), 242–245. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.01.003>

Sonenshine, D. E., & Roe, R. M. (Eds.). (2014). *Biology of ticks volume 2* (Vol. 2). Oxford University Press, USA.

Szabó, P. J., Mukai, L. S., Rosa, P. C. S., & Bechara, G. H. (1995). Differences in the acquired resistance of dogs, hamsters, and guinea pigs to repeated infestations with adult ticks *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 43-50.

Tatchell, R.J. & Moorhouse, D.E. (1968) The feeding processes of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini) partII. The sequence of the host-tissue changes. *Parasitology*, 58, 441–459.

Ueno, H.; Gonçalves, V.C. (1998). Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes Tóquio: *Japan International Cooperation Agency*.

Uilenberg G. (2006). *Babesia*--a historical overview. *Veterinary parasitology*, 138(1-2), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.035>

Vargas-Hernandez, M., Montero-Espinosa, C., Sánchez-Villaurrutia, D., Duarte, C. A., Bechara, G. H., Fuentes-Castillo, A., Ancisar, J., Suárez-Alba, J., Mosqueda-Lobaina, O., & Suárez-Pedroso, M. (2023). Infestation of rabbits with just-molted adults of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*: biological parameters and efficiency. *Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 32(1), e016122. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023006>

Villanueva, MA; Mingala, C.N.; Tubalinal, G.A.S.; Gaban, P.B.V.; Oliveira, C.; Suzuki, Y. (2018). Emerging Infectious Diseases in Water Buffalo: An Economic and Public Health Concern. *Emerging Infectious Diseases in Water Buffalo - An Economic and Public Health Concern*; DOI: [10.5772/intechopen.73395](https://doi.org/10.5772/intechopen.73395)

Zahler, M., Rinder, H., Schein, E., & Gothe, R. (2000). Detection of a new pathogenic *Babesia microti*-like species in dogs. *Veterinary parasitology*, 89(3), 241–248.
[https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(00\)00202-8](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(00)00202-8)

5. CAPÍTULO 2

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A HEMOPATÓGENOS E SEUS VETORES EM BÚFALOS NA REGIÃO CENTRO-OESTE DE MINAS GERAIS

5.1. Resumo

A bubalinocultura tem ganhado importância no Brasil, mas desafios sanitários ainda impactam a produtividade dos rebanhos. Este estudo investigou a presença de hemopatógenos e seus vetores em bezerros bubalinos de até 12 meses na microrregião de Bom Despacho (MG), além de identificar fatores de risco associados. Amostras de sangue foram analisadas por métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares para detecção de *Anaplasma marginale*, *Ehrlichia* sp. (monócitos), *Mycoplasma wenyonii*, 'Candidatus M. haemobos', *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Theileria* spp. Também foram coletados ectoparasitos e aplicados questionários abordando o perfil das propriedades, manejo, conhecimento dos proprietários sobre os carrapatos e suas consequências, além de estratégias para seu controle. A prevalência molecular dos hemopatógenos foi: *A. marginale* (65,33%), *Mycoplasma* spp. (30,27%), 'C. M. haemobos' (24,7%), *B. bovis* (8,36%), *B. bigemina* (3,58%), *Ehrlichia* sp. (1,19%) e *M. wenyonii* (1,99%). *Theileria* sp. não foi detectado. A média do volume globular foi de 33%, com valores reduzidos em coinfeções por *Mycoplasma* spp. No esfregaço sanguíneo, 19,61% (10/51) foram positivos para *A. marginale*, tendo uma média de 0.02% de rickettsemia. A sorologia (RIFI) revelou prevalências de *A. marginale* (35,85%), *B. bovis* (18,32%) e *B. bigemina* (43,42%), com 6,37% dos animais soropositivos para os três agentes. Os ectoparasitos identificados foram o carrapato *Rhipicephalus microplus* em 82,3% (14/17) das propriedades e piolhos da espécie *Haematopinus tuberculatus*. A análise dos fatores de risco indicou que idade, uso de abamectina e presença de machos jovens aumentaram a soropositividade para *A. marginale*. Para *B. bovis*, a alta infestação por carrapatos, presença de bovinos e uso de abamectina foram fatores de risco. Já para *B. bigemina*, infestações severas por carrapatos, tratamentos injetáveis e intervalos prolongados entre os tratamentos aumentaram a soropositividade. Conclui-se que *R. microplus* e *H. tuberculatus* parasitam bezerros bubalinos de até 12 meses na região, além de hemopatógenos do gênero *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. (monócitos), *Mycoplasma* sp. (hemotrópico) e *Babesia* spp. Além disso, a soropositividade para os agentes da Tristeza Parasitária Bovina (TPB) está associada a fatores como idade, sexo, manejo e controle de ectoparasitos.

Palavras-chave: *Bubalus bubalis*, Tristeza Parasitária Bovina, Carrapatos

5.2. Abstract

Buffalo farming has gained importance in Brazil, but health challenges still impact herd productivity. This study investigated the presence of hemopathogens and their vectors in buffalo calves up to 12 months old in the Bom Despacho microregion (MG), as well as identifying associated risk factors. Blood samples were analyzed using parasitological, serological, and molecular methods to detect *Anaplasma marginale*, *Ehrlichia* sp. (monocytes), *Mycoplasma wenyonii*, 'Candidatus M. haemobos', *Babesia bovis*, *B. bigemina*, and *Theileria* spp. Ectoparasites were also collected, and

questionnaires were administered to assess farm profiles, management practices, owners' knowledge about ticks and their consequences, and control strategies. The molecular prevalence of hemopathogens was: *A. marginale* (65.33%), *Mycoplasma* spp. (30.27%), 'C. M. haemobos' (24.7%), *B. bovis* (8.36%), *B. bigemina* (3.58%), *Ehrlichia* sp. (1.19%), and *M. wenyonii* (1.99%). *Theileria* sp. was not detected. The mean packed cell volume (PCV) was 33%, with lower values observed in co-infections involving *Mycoplasma* spp. In blood smears, 19.61% (10/51) were positive for *A. marginale*, with an average rickettsemia of 0.02%. Serology (IFA) revealed seroprevalences of *A. marginale* (35.85%), *B. bovis* (18.32%), and *B. bigemina* (43.42%), with 6.37% of animals testing positive for all three agents. The identified ectoparasites included the tick *Rhipicephalus microplus* in 82.3% (14/17) of the farms and lice of the species *Haematopinus tuberculatus*. Risk factor analysis indicated that age, use of abamectin, and the presence of young males increased seropositivity for *A. marginale*. For *B. bovis*, high tick infestation, the presence of cattle, and abamectin use were risk factors. For *B. bigemina*, severe tick infestations, injectable treatments, and prolonged treatment intervals increased seropositivity. In conclusion, *R. microplus* and *H. tuberculatus* parasitize buffalo calves up to 12 months old in the region, along with hemopathogens from the genera *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. (monocytes), *Mycoplasma* sp. (hemotropic), and *Babesia* spp. Furthermore, seropositivity for tick fever agents is associated with factors such as age, sex, management, and ectoparasite control strategies.

Key-words: *Bubalus bubalis*, Tick fever, Ticks.

5.3. Introdução

A América Latina destaca-se como a região de maior expansão na produção de búfalos, liderando o crescimento global no setor (Minervino *et al.*, 2020). No Brasil, a bubalinocultura teve início em 1890, com a introdução de animais originários da Europa, Caribe e Ásia, que foram inicialmente instalados na Ilha de Marajó, no estado do Pará (Camargo, 1973). Atualmente, Minas Gerais ocupa a terceira posição entre os estados com a maior população bubalina do país, com um rebanho estimado em 85.418 cabeças (IBGE, 2023).

O crescimento da produção bubalina no Brasil, impulsionado pela crescente demanda por produtos pecuários, levanta questões cruciais relacionadas ao manejo sanitário dessa espécie. Embora compartilhem semelhanças genéticas com os bovinos, os búfalos apresentam diferenças fisiológicas importantes, como maior resistência a certas enfermidades. No entanto, os estudos clínicos e epidemiológicos sobre a espécie ainda são limitados (Moaeen-Ud-Din & Bilal, 2015; Silva *et al.*, 2014a). A convivência frequente entre búfalos, bovinos e outros animais domésticos, além do contato com a fauna silvestre em diversos ecossistemas, favorece a transmissão de agentes infecciosos, incluindo hemopatógenos que representam riscos significativos

tanto para a saúde animal quanto para a saúde pública (Oliveira *et al.*, 2005; Motta-Giraldo *et al.*, 2014).

Dentre os principais hemopatógenos associados aos búfalos, destacam-se *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *B. bigemina*, agentes causadores da Tristeza Parasitária Bovina no Brasil, cuja transmissão está associada ao carrapato *Rhipicephalus microplus*, espécie predominante em búfalos no país (Estrada-Peña & de la Fuente, 2014; Obregón *et al.*, 2019). Além disso, *R. microplus* é vetor de outros hemopatógenos relevantes, como os causadores da Ehrliquiose monocítica (*Ehrlichia* spp.) (Cabezas-Cruz *et al.*, 2016) e Micoplasmose hemotrópica (*Mycoplasma* spp.) (Shi *et al.*, 2018), reforçando a importância do manejo integrado para o controle desses parasitos.

Os estudos sobre fatores de risco para hemopatógenos em búfalos são limitados no Brasil, apesar de evidências de outros países indicarem uma ampla gama de variáveis associadas à infecção. No Egito, por exemplo, observou-se maior suscetibilidade a *Babesia* spp. em búfalos com mais de um ano de idade (Yousef *et al.*, 2024). Já no Brasil, no estado do Pará, búfalos mais jovens apresentaram maior infestação por carrapatos, aumentando o risco de infecções transmitidas por esses vetores (Batista *et al.*, 2018). Fatores como diferenças regionais, práticas de manejo e características ecológicas desempenham um papel fundamental na dinâmica de vetores e patógenos, influenciando diretamente os padrões de transmissão e a prevalência das infecções (Silva *et al.*, 2014b).

Além disso, a origem dos animais e a ausência de um manejo sanitário adequado também figuram como determinantes, sendo aspectos críticos para regiões amazônicas e semiáridas (Batista *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2014b). Portanto, dada a relevância da bubalinocultura e os desafios sanitários associados, o objetivo deste estudo foi investigar os fatores de risco para os agentes da Tristeza Parasitária e seu vetor, além de identificar molecularmente outras espécies de hemopatógenos transmitidos por vetores presentes em búfalos em Minas Gerais.

5.4. Material e Métodos

5.4.1. Considerações éticas

O estudo contou com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), vinculado à Plataforma Brasil, para a aplicação dos questionários aos proprietários

das fazendas, conforme protocolo número 789/2023 (ANEXO II). A coleta de sangue dos búfalos foi autorizada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG, com protocolo número 123/2023, assegurando que os procedimentos seguissem os princípios éticos e as regulamentações de bem-estar animal (ANEXO III).

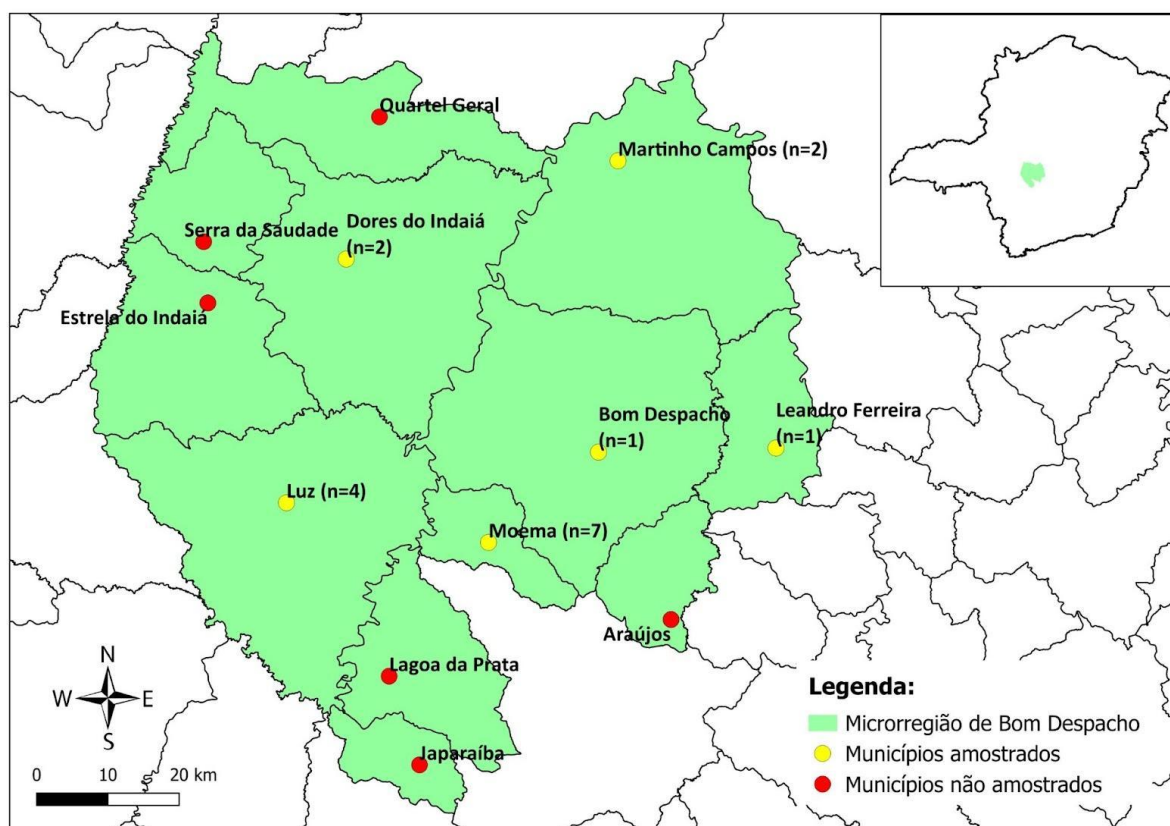
5.4.2. Local de estudo

O local de estudo escolhida foi a microrregião de Bom Despacho (MG), incluindo os municípios: Bom Despacho, Lagoa da Prata, Luz, Martinho Campos, Dolores do Indaiá, Araújos, Moema, Japaraíba, Leandro Ferreira, Quartel Geral, Estrela do Indaiá e Serra da Saudade (Figura 9). Essa área está situada na região Centro-Oeste de Minas Gerais, onde predomina o bioma Cerrado, reconhecido como a maior savana tropical da América do Sul, apresentando uma rica biodiversidade (Pagotto *et al.*, 2006; Wantzen *et al.*, 2012). O clima característico dessa região é altamente propício à reprodução de ectoparasitos, especialmente carrapatos.

A região foi selecionada a partir da demanda de uma fazenda de bubalinocultura no município de Bom Despacho, Minas Gerais, Brasil, que relatou dificuldades no controle de carrapatos, além de preocupações com a mortalidade de bezerros associada a TPB. Foi realizada uma análise prévia nesta propriedade pelo presente grupo de pesquisa e o problema de infestação por *R. microplus* e a presença dos agentes da TPB foi confirmada. Essa região possui uma crescente expansão da bubalinocultura local, impulsionada pela conversão de propriedades anteriormente dedicadas à bovinocultura leiteira, refletindo a busca por alternativas mais adaptáveis às condições ambientais e econômicas. Além disso, a maioria das fazendas da área compartilha desafios semelhantes, como a necessidade de adaptação a novas práticas de manejo, o que reforça a importância de investigar as causas dos problemas enfrentados e desenvolver soluções eficazes para os criadores de búfalos locais.

Portanto, a aplicação do questionário e a coleta de sangue dos bezerros bubalinos foram realizadas em 17 fazendas produtoras de búfalos localizadas nesta microrregião. A seleção das propriedades foi baseada na presença de animais com idades entre 0 e 12 meses, conforme os dados registrados pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) nas propriedades cadastradas em 2022.

Figura 9 - Mapa da microrregião de Bom Despacho, Minas Gerais, com a divisão de seus 12 municípios. Os municípios amostrados estão acompanhados pelo número de propriedades visitadas (n).



Fonte: QGIS (v. 3.32.0, 2023), WGS-84 como sistema de referência geográfica.

5.4.3. Questionário

Antes disto, cada proprietário recebeu uma carta convite juntamente com os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, contendo informações sobre todos os procedimentos a serem realizados e o objetivo do projeto (ANEXOS IV e V).

As visitas foram realizadas entre os meses de agosto e outubro do ano de 2024 (Quadro 2). A coleta de informações foi feita por entrevistas semiestruturadas com 51 questões, com o objetivo de levantar informações sobre a caracterização dos produtores, assim como a percepção sobre os carrapatos e suas consequências (transmissão de hemopatógenos), bem como sobre a atitude em relação ao combate do carrapato e outros ectoparasitos em búfalos (ANEXO VI). A metodologia do presente estudo foi adaptada da metodologia de Rocha (1995).

O questionário investiga variáveis que podem representar fatores de risco para hemopatógenos e seus vetores nas propriedades estudadas. Ele foi estruturado em

diversos tópicos, incluindo identificação da propriedade, características do rebanho, tipo de manejo, presença de outros animais, além da percepção dos proprietários sobre os carrapatos e seus impactos. Esse último aspecto abrange tanto os prejuízos produtivos quanto o papel dos carrapatos na transmissão de hemopatógenos, como *A. marginale* e *Babesia* spp. O questionário também explora as estratégias adotadas para o controle de ectoparasitos em búfalos. Por fim, as variáveis apontadas foram relacionadas diretamente com os resultados sorológicos (RIFI) de cada agente (*A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*) em modelos estatísticos, para conferirem a probabilidade de serem fatores de risco para tal soropositividade.

Quadro 2 – Estratificação das amostras coletadas por propriedade e data de visita.

Propriedade	Localização	Total de Amostras	Data Visita
Propriedade 1	Bom Despacho - MG	16	08/2024
Propriedade 2	Moema - MG	15	08/2024
Propriedade 3	Moema - MG	15	08/2024
Propriedade 4	Luz - MG	17	08/2024
Propriedade 5	Luz - MG	15	08/2024
Propriedade 6	Leandro Ferreira	15	08/2024
Propriedade 7	Moema - MG	15	09/2024
Propriedade 8	Moema - MG	16	09/2024
Propriedade 9	Moema - MG	15	09/2024
Propriedade 10	Moema - MG	15	09/2024
Propriedade 11	Moema - MG	20	09/2024
Propriedade 12	Luz - MG	3	10/2024
Propriedade 13	Martinho Campos - MG	21	10/2024
Propriedade 14	Martinho Campos - MG	18	10/2024
Propriedade 15	Dores do Indaiá - MG	4	10/2024
Propriedade 16	Dores do Indaiá - MG	12	10/2024
Propriedade 17	Luz - MG	19	10/2024

Fonte: elaborado pelo autor (2025)

5.4.4. Coleta e análise de material

Foram coletadas amostras em 17 fazendas, perfazendo um total de 251 animais. Em cada propriedade estava previsto a coleta de 15 amostras de bezerros até 12 meses de idade, selecionados aleatoriamente. Em situações em que havia

menos de 15 animais, todos com menos de 12 meses disponíveis foram incluídos no estudo. O número de animais amostrados foi considerado suficiente para obter resultados estatisticamente significativos em relação ao total de 1.718 animais cadastrados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) em 2022.

Foram realizadas coletas de sangue através de punção da veia jugular, esfregaço sanguíneo de ponta de cauda e avaliação da infestação de ectoparasitos. Esses animais foram contidos em bretes, quando disponíveis, e/ou, contidos manualmente em decúbito lateral, em locais sem estrutura de contenção. Para realização do esfregaço sanguíneo foi colhido uma gota de sangue de ponta de cauda através da punção com uma agulha estéril. As amostras de sangue foram coletadas em tubos com e sem coagulante (Ácido Etilenodiaminotetracético-EDTA).

Para a avaliação da infestação por ectoparasitos, o corpo de cada bezerro bubalino foi cuidadosamente inspecionado e a pele palpada. Foi realizada uma amostragem de espécimes dos ectoparasitos encontrados. Todos os carrapatos e piolhos coletados foram armazenados em tubos identificados contendo etanol a 70%. As amostras biológicas foram armazenadas em caixas de isopor com gelo até a chegada ao laboratório de Protozoologia Veterinária (PROTOVET), do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) da Escola de Veterinária (EV), da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

As amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas para obtenção de soro (centrífuga FANEM Excelsa 2 a 4.000 g/5 minutos) e aliqotado em microtubos tipo *ependorf*. As amostras de sangue total também foram acondicionadas em tubos tipo *ependorf* de 1,5ml. Por fim, todas as amostras foram identificadas e armazenadas -20 °C até que os exames laboratoriais fossem realizados.

Os esfregaços sanguíneos foram corados com Panótico Rápido® e os ectoparasitos foram armazenados em álcool 70°.

5.4.4.1. Teste Microhematócrito (Volume globular)

No mesmo dia da coleta, foram realizadas as avaliações de hematócrito das amostras de sangue coletadas em tubos com EDTA, através do teste de microhematócrito (Fred, 2007). Para isso, foi utilizada uma Centrífuga de Microhematócrito 211, FANEM, com rotação de 12.000g/5 minutos e a leitura foi realizada com o auxílio de uma tabela de referência para microhematócrito.

5.4.4.2. Esfregaço sanguíneo

Após corado com Panótico Rápido®, as lâminas foram lidas em microscópio óptico Nikon Eclipse Ei (Nikon Corporation, Tóquio, Japão) em aumento de 1000x com uso de óleo de imersão. A lâmina foi amplamente avaliada, desde a franja até o corpo meio do esfregaço, evitando áreas de sobreposição, afim de visualizar os hemopatógenos. Quando encontrados, foi realizada a contagem de células parasitadas (rickettsemia) de acordo com IICA (1987).

5.4.4.3. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

Foi realizada avaliação sorológica pela RIFI para analisar a presença de anticorpos nos animais para *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *A. marginale*.

Para isso, utilizou-se a técnica descrita por IICA, 1987, sendo que os controles positivos e negativos, foram obtidos por infecções experimentais ou naturais em bovinos, com cada um dos agentes (Costa *et al.*, 2006). As lâminas foram analisadas em microscópio de epifluoresceína Leica, em aumento de 40X, sendo consideradas positivas as amostras que apresentaram uma reação específica.

5.4.4.4. Extração e Amplificação de DNA

A extração de DNA das amostras de sangue total foi realizada utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega®), seguindo as recomendações do fabricante para 300 µL de sangue. O DNA extraído foi amplificado utilizando termociclador automático (Eppendorf Mastercycler® ou Bio-Rad T100 Thermal Cycler®). As amostras de controles positivos utilizados foram provenientes de animais experimentalmente ou naturalmente infectados, seguidos de confirmação por sequenciamento nucleotídico e, os controles negativos das reações foram a água de milli-Q ultrapura DNase e RNase free que acompanha o kit do reagente GoTaq Green Master Mix.

A sequência de iniciadores utilizados para identificação dos gêneros e espécies de riquetsias e protozoários estão no quadro 3 abaixo.

Quadro 3 - Sequência de iniciadores utilizados para identificação dos agentes em estudo.

Agente	Iniciadores	Protocolo	Sequências	Tamanho do Fragmento (pb)	Referência
Anaplasmataceae de monócitos (16S rRNA gene)	Triagem 1ª reação NS16SCH1F NS16SCH1R 2ª reação NS16SCH2F NS16SCH2R	nPCR	5'-ACGGACAATTGCTTATAGCCTT 5'-ACAACCTTTTATGGATTAGCTAAAT 5'-GGGCACGTAGGTGGACTAG-3' 5'-CCTGTTAGGAGGGATACGAC-3'	1195 443	Kawahara <i>et al.</i> , 2009
Anaplasma marginale (msp4 gene)	Caracterização 1ª reação MSP45 MSP43 2ª reação AnapF AnapR	nPCR	5'-GGGAGCTCCTATGAATTACAGAGAATTGTTTAC-3' 5'-CCGGATCCTTAGCTGAACAGGAATCTTGC-3' 5'-CGCCAGCAAACCTTTTCCAAA-3' 5'-ATATGGGGACACAGGCAAAT-3'	872 294	De la Fuente <i>et al.</i> , 2008 Silveira <i>et al.</i> , 2012
Mycoplasma sp. hemotrópico (16S rRNA gene)	Triagem HBTF HBTR	cPCR	5'-ATACGGCCCATATTCCTACG-3' 5'-TGCTCCACCACTTGTTC-3'	618	Criado-Fornelio <i>et al.</i> , 2003
Mycoplasma wenyonii (GAPDH gene)	Caracterização MwenF MwenR	cPCR	5'-GTCTGCGTGAGGAGCATCTT-3' 5'-GATGCTGGTGCGGATAAGGT-3'	252	Ade <i>et al.</i> , 2018
Candidatus Mycoplasma haemobos (GAPDH gene)	Caracterização CMhboF CMhboR	cPCR	5'-AGATCCGGCAGTGTGAGAAA-3' 5'-TGCAGCAGCAGCTATTGGTA-3'	232	Ade <i>et al.</i> , 2018
Babesia bigemina (ITS gene)	Caracterização BbS BbR	cPCR	5'-GCGTTGTCGTCGCTCTTG-3' 5'-CTTAAATTCGGCGGATGG-3'	646	Liu <i>et al.</i> , 2014.
Babesia bovis (rap-1 gene)	Caracterização 1ª reação BOF BOR 2ª reação BOFN BORN	nPCR	5'-CACGAGGAAGGAACCTACCGATGTTGA-3' 5'-CCAAGGAGCTTCAACGTACGAGGTCA-3' 5'-TCAACAAGGTACTCTATATGGCTACC-3' 5'-CTACCGAGCAGAACCTTCTTCACCAT-3'	* 356	Figuerola <i>et al.</i> , 1993
Theileria buffeli/orientalis (MPSP gene)	Caracterização MPSP-F MPSP-R	cPCR	5'-CTTTGCCTAGGATACTTCCT-3' 5'-ACGGCAAGTGGTGAGAACT-3'	776	Ota <i>et al.</i> , 2009

Fonte: elaborado pelo autor (2025).

Para a realização da eletroforese, foi aplicado, em cada poço no gel de agarose – a 1,5% em meio tampão (TAE 0,5X) –, uma mistura de 5 µL do produto da amplificação. Utilizou-se 1 Kb Ladder Plus (Fermentas®) como padrão de peso molecular. Em seguida, os produtos correram no gel sob o potencial elétrico de 100 volts por 30 minutos e foram observados posteriormente em luz ultravioleta.

5.4.4.5. Identificação morfológica de ectoparasitos

No laboratório, os espécimes de ectoparasitos foram identificados até o nível de espécie utilizando um estereomicroscópio, seguindo a chave taxonômica descrita por Walker *et al.* (2014) para os carrapatos, e Werneck (1936) para os piolhos.

5.4.5. Análise estatística

O questionário foi organizado em planilhas juntamente aos resultados da RIFI, analisando de maneira descritiva com a apresentação de suas distribuições de frequências. A estatística inferencial foi realizada por meio de testes de qui-quadrado de Pearson e teste de proporções, considerando-se, para todas as análises, um nível de 5% de significância estatística. Todas as análises foram realizadas com o programa estatístico R.

Inicialmente, planejou-se coletar 15 amostras em cada uma das 25 propriedades propostas. Entretanto, devido a dificuldades de acesso a todos os locais, foram coletadas amostras de 17 propriedades. Em situações em que havia menos de 15 animais na faixa etária avaliada, todos os animais com menos de 12 meses disponíveis foram incluídos no estudo, resultando em um total de 251 animais. Esse número foi considerado suficiente para obter resultados estatisticamente significativos em relação ao total de 1.718 animais cadastrados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) em 2022.

Para a análise dos fatores de risco associados à soropositividade dos animais, foi realizada uma análise de regressão logística, empregando a *odds ratio* como medida de associação, com um nível de significância estatística estabelecido em 5%, no software R.

A metodologia adotada também enfatizou características específicas que impactam o desempenho do modelo, além de integrar o "conhecimento do produtor", que fornece informações práticas sobre o uso de recursos e suas implicações. Essa

abordagem destaca a natureza interativa do modelo, que depende de variáveis críticas para assegurar a precisão e robustez dos resultados.

5.5. Resultados

5.5.1. Volume Globular

A média do VG entre os animais foi de 33%, com desvio padrão de 6,05. Alguns animais apresentaram um valor relativamente baixo, de acordo com o valor proposto por Fontes *et al.*, (2014), porém com resultados variados em relação à presença de hemopatógenos. Por exemplo, um animal com VG de 14% foi positivo na PCR para *A. marginale* e 'C. M. haemobos', além de mostrar rickettsemia de 1% no esfregaço sanguíneo. Outros com 20% foram negativos para hemopatógenos na PCR e no esfregaço sanguíneo, enquanto alguns também apresentaram positividade para 'C. M. haemobos' ou *A. marginale* na PCR. Todos os animais que apresentaram coinfeções com o gênero *Mycoplasma* mostraram um volume globular menor que 25%.

5.5.2. Esfregaço sanguíneo

Das 251 lâminas analisadas, em 28,28% (71/251) foi possível a visualização apenas de *Anaplasma marginale*, permitindo a contagem das células parasitadas relacionadas à rickettsemia (Tabela 2). A média geral de rickettsemia observada nas amostras positivas foi de 0,05%, sendo a maior média registrada de 0,23%, observada nas propriedades 1 e 10. A propriedade com maior porcentagem de lâminas positivas foi a propriedade 10, com 80% (12/15) de positividade. Nenhum outro microrganismo foi identificado nos esfregaços sanguíneos avaliados.

Tabela 4 – Frequência de positividade para *A. marginale* em esfregaço sanguíneo e percentual de rickettsemia por propriedade avaliada.

ESFREGAÇO SANGÜÍNEO		
PROPRIEDADES	<i>A. marginale</i>	Rickettsemia
Propriedade 1	25% (4/16)	0,23%
Propriedade 2	46,67% (7/15)	0,05%
Propriedade 3	46,67% (7/15)	0,03%
Propriedade 4	58,82% (10/17)	0,09%
Propriedade 5	66,61% (10/15)	0,09%
Propriedade 6	20% (3/15)	0,03%
Propriedade 7	13,3% (2/15)	0,02%
Propriedade 8	12,5% (2/16)	0,01%
Propriedade 9	40% (6/15)	0,21%
Propriedade 10	80% (12/15)	0,23%
Propriedade 11	0/20	-
Propriedade 12	0/3	-
Propriedade 13	0/21	-
Propriedade 14	33,3% (6/18)	0,07%
Propriedade 15	0/4	-
Propriedade 16	16,67% (2/12)	0,02%
Propriedade 17	0/19	-
TOTAL	28,28% (71/251)	0,05%

Fonte: elaborado pelo autor (2025)

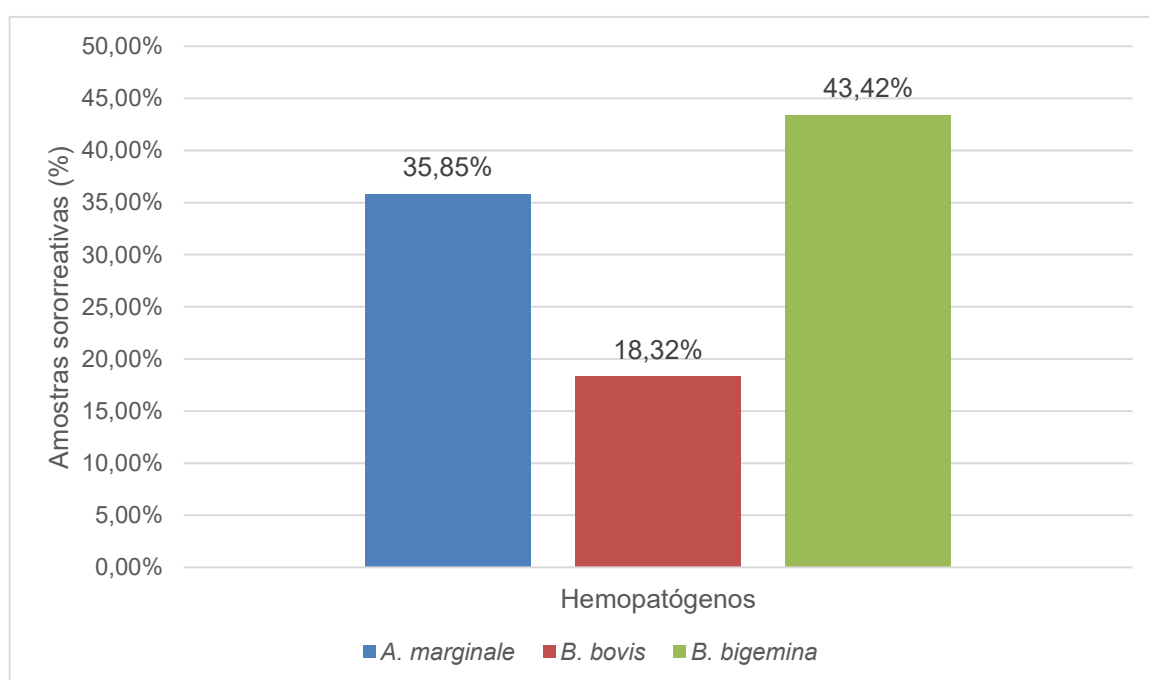
5.5.3. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

A RIFI realizada para *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* revelou as seguintes prevalências entre os bezerros avaliados: anticorpos contra *A. marginale* apresentou uma prevalência de 35,85% (90/251), de *B. bovis* foi detectado em 18,32% das amostras (46/251) e de *B. bigemina* apresentou a maior prevalência, com 43,42% (109/251) (Figura 10). Todas as propriedades avaliadas apresentaram animais

sororreativos para pelo menos um dos agentes de TPB, sendo a propriedade 9 com menor prevalência e a propriedade 16 com a maior prevalência.

Quanto à reatividade simultânea aos diferentes agentes, 16 das 251 amostras (6,37%) apresentaram anticorpos contra os três hemopatógenos pesquisados. Entre as 17 fazendas amostradas, 10 registraram pelo menos um animal com essa soropositividade tripla. A coinfeção sorológica por *A. marginale* e *B. bovis* foi observada em 23 amostras (9,16%), enquanto a associação entre *A. marginale* e *B. bigemina* ocorreu em 51 amostras (20,32%). Já a reatividade simultânea a ambas as espécies de *Babesia* foi detectada em 27 casos (10,76%).

Figura 10 – Análises sorológicas utilizando Reação de Imunofluorescência Indireta - RIFI para *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *B. bigemina* em 251 bezerros bubalinos de até 12 meses de vida, provenientes de propriedades da microrregião de Bom Despacho (MG).



Fonte: elaborado pelo autor (2025).

5.5.4. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A análise por PCR revelou diferentes prevalências de infecção entre os bezerros avaliados (Figura 11). Todas as propriedades avaliadas apresentaram animais positivos molecularmente para pelo menos um dos hemopatógenos pesquisados, sendo a propriedade 17 com menor prevalência e a propriedade 11 com a maior prevalência.

Para as bactérias, *A. marginale* foi o agente mais prevalente, com 65,34% das amostras positivas (164/251). O gênero de *Mycoplasma* hemotrópico foi detectado em 33,06% das amostras (83/251), sendo que, entre as espécies identificadas, 'C. M. haemobos' foi encontrada em 74,70% (62/93) e *M. wenyonii* em 6,03% (5/83). Além disso, agentes da família Anaplasmataceae que parasitam monócitos foram detectados em 1,19% das amostras (3/251).

Entre os protozoários, *B. bovis* apresentou uma prevalência de 8,36% (21/251), enquanto *B. bigemina* foi detectada em 3,58% das amostras (9/251).

Os resultados obtidos pela PCR revelaram a ocorrência de diversos casos de coinfeção. Entre as combinações envolvendo os agentes *B. bovis* e *A. marginale*, foi registrada uma frequência de 2,78% (7/251). Coinfecções mais complexas, incluindo *B. bovis*, *A. marginale* e 'C. M. haemobos', foram detectadas em 1,20% (3/251). Adicionalmente, a presença conjunta de *B. bovis*, *B. bigemina* e *A. marginale* foi identificada em 0,80% (2/251). Uma combinação envolvendo *B. bovis*, *A. marginale*, 'C. M. haemobos' e *M. wenyonii* foi observada em 0,40% (1/251), enquanto outra coinfeção entre *B. bovis* e *Mycoplasma* sp. foi detectada em 0,40% (1/251). Coinfecções entre *B. bigemina* e *A. marginale* ocorreram em 2,00% (5/251).

Entre os casos envolvendo *A. marginale* e 'C. M. haemobos', a frequência foi de 15,93% (40/251), representando a combinação mais prevalente. Outras coinfecções incluíram *A. marginale* com *M. wenyonii* em 0,80% (2/251), *A. marginale* com *Ehrlichia* sp. em 0,40% (1/251), e *A. marginale*, *Ehrlichia* sp. e 'C. M. haemobos' em 0,80% (2/251). Coinfecções envolvendo *A. marginale* e *Mycoplasma* sp. foram identificadas em 3,18% (8/251).

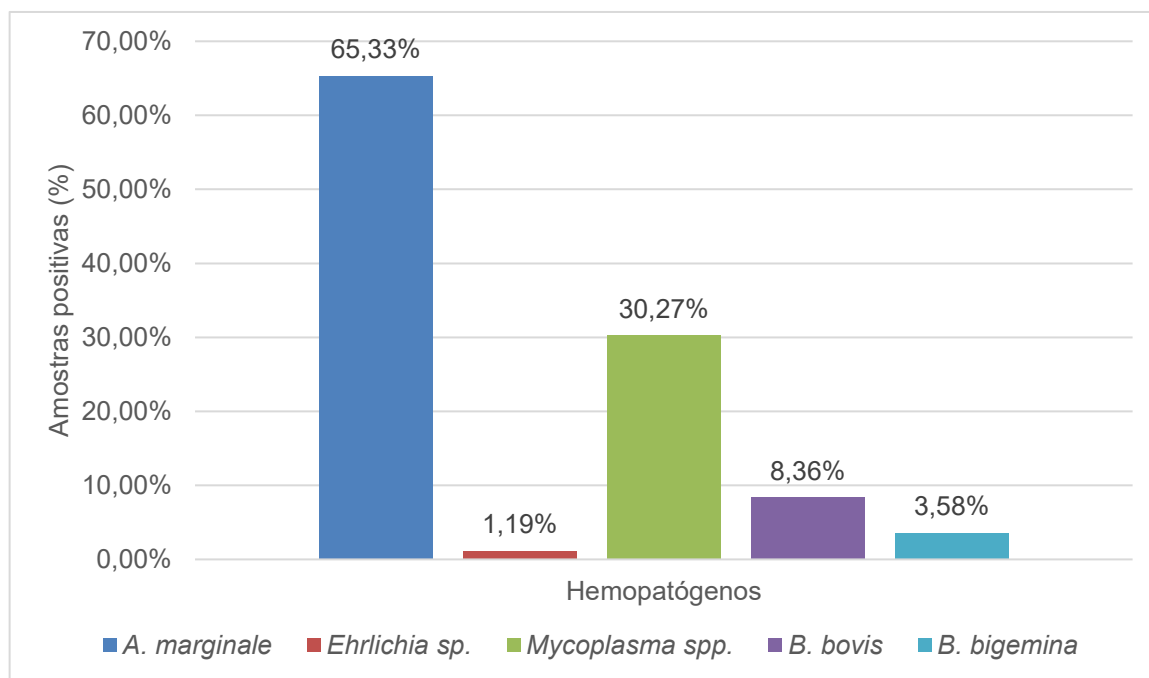
A tabela 3 representa todos os resultados sorológicos e moleculares divididos por propriedade, nesta é possível verificar as prevalências totais e por propriedade para cada agente em cada metodologia diagnóstica.

Tabela 5 - Resultados sorológicos (RIFI) e moleculares (PCR) de bezerros bubalinos com até 12 meses de idade, provenientes de diferentes propriedades situadas na microrregião de Bom Despacho (MG).

PROPRIEDADES	RIFI			PCR								TOTAL
	<i>A. marginale</i>	<i>B. bovis</i>	<i>B. bigemina</i>	<i>A. marginale</i>	<i>Ehrlichia</i> sp.	<i>Mycoplasma</i> sp.	<i>M. wenyonii</i>	<i>C. M. haemobus</i>	<i>B. bovis</i>	<i>B. bigemina</i>	<i>Theileria</i> sp.	
1	87,5% (14/16)	25% (4/16)	62,5% (10/16)	81,25% (13/16)	(0/16)	62,5% (10/16)	6,25% (1/16)	56,25% (9/16)	(0/16)	(0/16)	(0/16)	16
2	26,6% (4/15)	40% (6/15)	66,6% (10/15)	86,67% (13/15)	(0/15)	40% (6/15)	6,67% (1/15)	26,67% (4/15)	13,33% (2/15)	20% (3/15)	(0/15)	15
3	60% (9/15)	26,6% (4/15)	46,6% (7/15)	80% (12/15)	(0/15)	26,67% (4/15)	(0/15)	20% (3/15)	(0/15)	6,67% (1/15)	(0/15)	15
4	35,3% (6/17)	47% (8/17)	47% (8/17)	94,12% (16/17)	5,88% (1/17)	11,76% (2/17)	(0/17)	11,76% (2/17)	(0/17)	(0/17)	(0/17)	17
5	86,6% (13/15)	40% (6/15)	46,6% (7/15)	80% (12/15)	(0/15)	13,33% (2/15)	6,67% (1/15)	13,33% (2/15)	(0/15)	6,67% (1/15)	(0/15)	15
6	6,6% (1/15)	(0/15)	40% (6/15)	80% (12/15)	6,67% (1/15)	40% (6/15)	(0/15)	33,33% (5/15)	33,33% (5/15)	13,33% (2/15)	(0/15)	15
7	73,3% (11/15)	(0/15)	13,3% (2/15)	26,67% (4/15)	6,67% (1/15)	20% (3/15)	(0/15)	20% (3/15)	(0/15)	(0/15)	(0/15)	15
8	25% (4/16)	18,75% (3/16)	18,75% (3/16)	50% (8/16)	(0/16)	31,25% (5/16)	6,25% (1/16)	31,25% (5/16)	6,25% (1/16)	(0/16)	(0/16)	16
9	(0/15)	(0/15)	6,6% (1/15)	46,67% (7/15)	(0/15)	33,33% (5/15)	(0/15)	33,33% (5/15)	6,67% (1/15)	(0/15)	(0/15)	15
10	53,3% (8/15)	13,3% (2/15)	80% (12/15)	100% (15/15)	(0/15)	20% (3/15)	(0/15)	13,33% (2/15)	6,67% (1/15)	(0/15)	(0/15)	15
11	45% (9/20)	20% (4/20)	70% (14/20)	100% (20/20)	(0/20)	60% (12/20)	(0/20)	50% (10/20)	5% (1/20)	(0/20)	(0/20)	20
12	(0/3)	(0/3)	33,3% (1/3)	66,67% (2/3)	(0/3)	(0/3)	(0/3)	(0/3)	(0/3)	(0/3)	(0/3)	3
13	(0/21)	4,7% (1/21)	(0/21)	52,38% (11/21)	(0/21)	57,14% (12/21)	4,76% (1/21)	52,38% (11/21)	(0/21)	(0/21)	(0/21)	21
14	(0/18)	(0/18)	27,7% (5/18)	50% (9/18)	(0/18)	11,11% (2/18)	(0/18)	(0/18)	16,67% (3/18)	11,11% (2/18)	(0/18)	18
15	75% (3/4)	50% (2/4)	75% (3/4)	100% (4/4)	(0/4)	25% (1/4)	(0/4)	(0/4)	(0/4)	(0/4)	(0/4)	4
16	38,9% (7/18)	50% (6/12)	91,6% (11/12)	41,67% (5/12)	(0/12)	8,33% (1/12)	(0/12)	(0/12)	8,33% (1/12)	(0/12)	(0/12)	12
17	5,27% (1/19)	(0/19)	47,36% (9/19)	5,26% (1/19)	(0/19)	10,53% (2/19)	(0/19)	5,26% (1/19)	31,58% (6/19)	(0/19)	(0/19)	19
TOTAL	35,85% (90/251)	18,32% (46/251)	43,42% (109/251)	65,33% (164/251)	1,19% (3/251)	30,27% (76/251)	1,99% (5/251)	24,7% (62/251)	8,36% (21/251)	3,58% (9/251)	(0/251)	251

Fonte: elaborado pelo autor (2025)

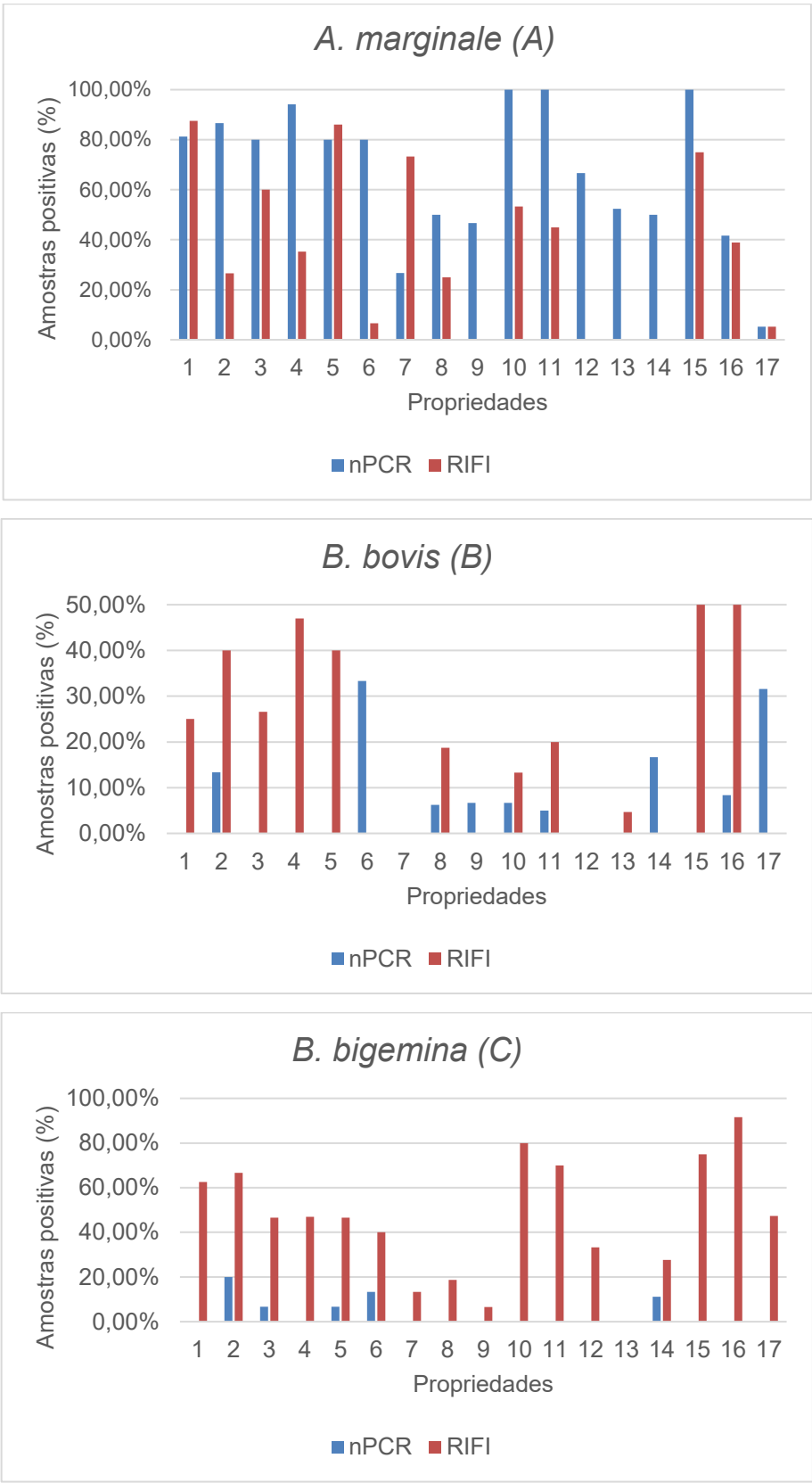
Figura 11 - Análises moleculares utilizando PCR *Anaplasma marginale*, *Ehrlichia* sp., *Mycoplasma* sp., *Babesia bovis* e *B. bigemina* em 251 bezerros bubalinos de até 12 meses de vida, provenientes de propriedades da microrregião de Bom Despacho MG.



Fonte: elaborado pelo autor (2025).

As prevalências moleculares e sorológicas nos rebanhos estudados estão apresentadas na Figura 12 e tabela 3. Nem todas as fazendas com animais soropositivos apresentaram resultados positivos na nPCR, e, da mesma forma, nem todos os positivos na nPCR foram soropositivos. Dentre os agentes da TPB, *A. marginale* apresentou a maior prevalência molecular (65,33%), enquanto *B. bigemina* teve a maior prevalência sorológica (43,42%).

Figura 12 - Prevalência molecular (nPCR) e sorológica (RIFI) de *A. marginale* (A); *B. bovis* (B) e *B. bigemina* (C) de 251 bezerros bubalinos de até 12 meses de idade em diferentes rebanhos da microrregião de Bom Despacho (MG).

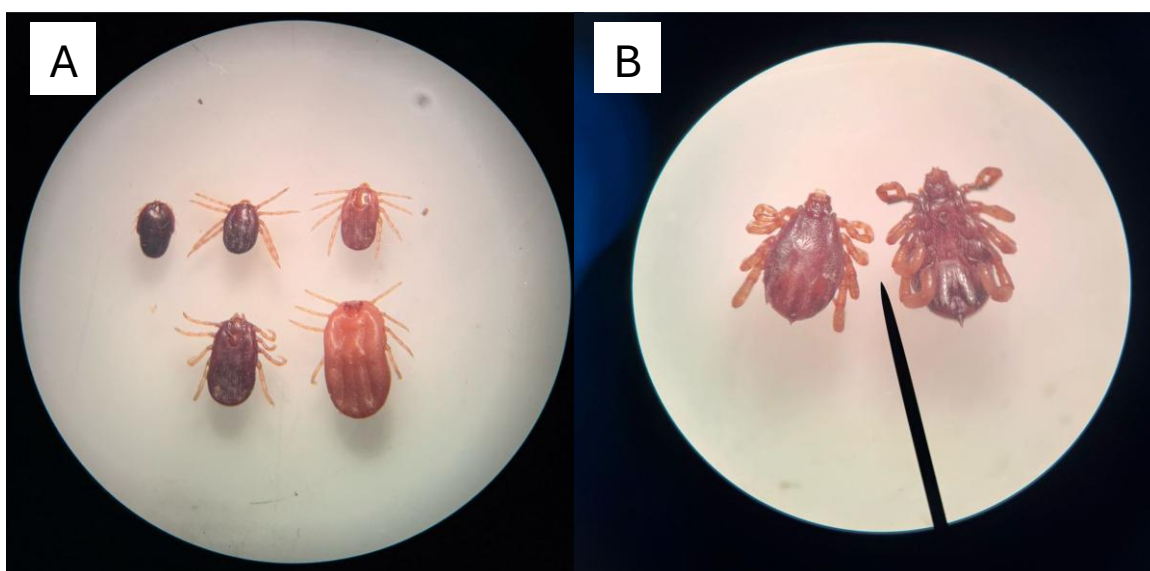


Fonte: elaborado pelo autor (2025)

5.5.5. Ectoparasitos

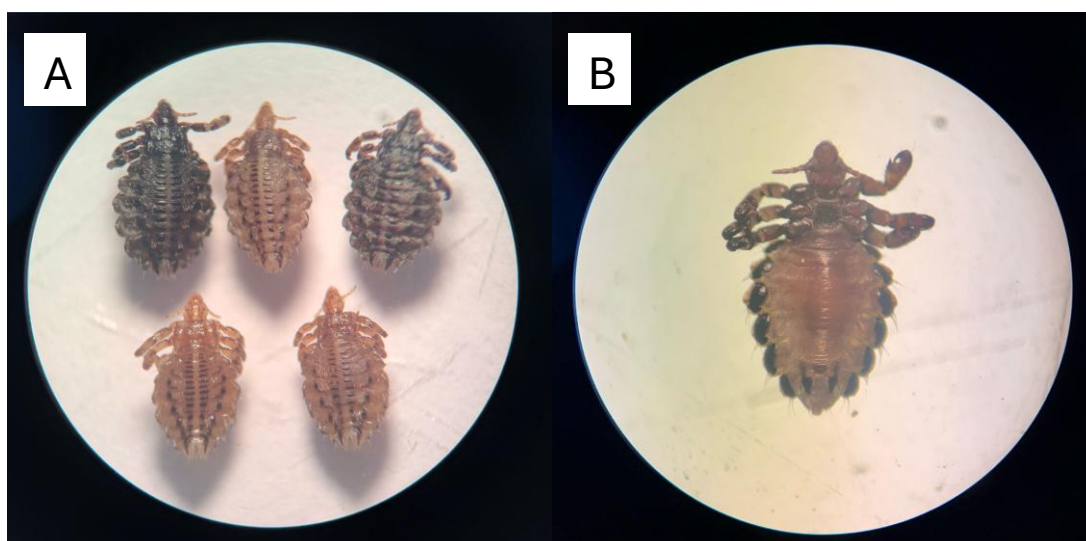
Das 17 fazendas visitadas, as propriedades 9, 13 e 15 não apresentaram carrapatos nos bezerros avaliados no dia da visita. Nas 14 propriedades restantes, todos os espécimes de carrapatos coletados foram identificados morfologicamente como *R. microplus*. Além disso, quatro propriedades (propriedades 1, 7, 14 e 16) apresentaram piolhos na categoria avaliada durante as visitas, sendo esses identificados como a espécie *Haematopinus tuberculatus* (Figuras 13 e 14).

Figura 13 – A: Carrapatos fêmeas da espécie *Rhipicephalus microplus* coletados de bezerros bubalinos provenientes de propriedades da microrregião de Bom Despacho (MG).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 14 – Piolhos da espécie *Haematopinus tuberculatus* coletados de bezerros bubalinos provenientes de propriedades da microrregião de Bom Despacho (MG).



Fonte: Arquivo pessoal

5.5.6. Fatores de risco

O modelo estatístico incorporou o ID (identificador) como um efeito aleatório, considerando que os animais estão agrupados dentro das propriedades. Em algumas análises, o Coeficiente de Correlação Intraclass (ICC) foi de 0,49, indicando que 49% da variação dos dados se deve a efeitos entre propriedades, em contraste com efeitos entre os animais, o que ressalta a necessidade de controlar o efeito de propriedade.

Os resultados obtidos a partir do questionário e dos testes de RIFI para *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* permitiram a identificação de fatores de risco associados à soropositividade desses agentes.

Foi observado que, para *A. marginale*, de acordo com o histórico das fazendas, a idade dos animais aumentou a *odds* de risco em 1,49 vezes (IC 95% [1.18, 1.89]). Além disso, o uso de abamectina no tratamento de carrapatos também apresentou um risco elevado (OR = 16,49; IC [2.79, 97.45]). Quanto às características das propriedades, verificou-se que a presença de machos com idade entre 0 e 12 meses representou um risco leve de soropositividade, com uma *odds ratio* de 1,03 (IC [1.03, 1.04]). Por outro lado, segundo o conhecimento dos produtores, infestações em épocas de seca foram consideradas um fator de proteção (OR = 0,12; IC [0.02, 0.89]).

Em relação a *B. bovis*, foi observado que, segundo a percepção do proprietário, altas infestações de carrapatos aumentou o risco dos animais serem soropositivos em 3,06 vezes (IC [1.18, 7.88]). O uso de abamectina no tratamento contra carrapatos também foi associado a um risco aumentado de soropositividade (OR = 8,19; IC [2.02, 33.15]), enquanto a utilização de doramectina foi considerada um fator de proteção (OR = 0,091; IC [0.02, 0.29]). De acordo com a caracterização das propriedades, a presença de bovinos foi identificada como um fator de risco (OR = 3,95; IC [1.23, 12.69]). No que se refere ao sistema de criação, tanto o manejo intensivo (OR = 0,56; IC [0.09, 1.78]) quanto o semiextensivo (OR = 0,18; IC [0.6, 0.59]) foram associados a uma menor soropositividade, sendo que o intensivo não foi significativo ($p > 0,05$). Além disso, de acordo com o conhecimento dos proprietários, infestações durante a estação chuvosa foram classificadas como fator de risco (OR = 1,17; IC [1.16, 1.17]). E ainda, revelou que a idade dos animais apresentou uma *odds ratio* de 0,87 (IC [0.85, 0.87]), indicando uma relação inversa entre a idade e a soropositividade. Isso sugere que animais mais jovens têm uma maior probabilidade de serem soropositivos, enquanto essa chance diminui conforme a idade avança.

Para *B. bigemina*, foi observado que os casos de infestações com mais de 50 carrapatos por animal aumentaram o risco de serem soropositivos em 5,03 vezes (IC [3.32, 7.61]). Além disso, o tipo de tratamento injetável aumentou o risco em 3,87 vezes (IC [2.73, 5.46]), e os tratamentos contra carrapatos realizados em intervalos superiores a 120 dias aumentaram o risco em 1,85 vezes (IC 95% [2.39e-09, 1.43e-07]). No entanto, a utilização de doramectina foi considerada um fator de proteção (OR = 0,068; IC [0.05, 0.08]). Entre as características das propriedades, a idade dos animais foi identificada como um fator de risco (OR = 1,19; IC [1.01, 1.40]), sendo que quanto maior a idade, maior a probabilidade do animal ser soropositivo para esse agente. Quanto ao sistema de criação, tanto o manejo intensivo (OR = 0,61; IC [0.11, 3.34]) quanto o semiextensivo (OR = 0,16; IC [0.04, 0.62]) também foram associados a uma menor probabilidade de soropositividade, entretanto o sistema intensivo também não foi significativo ($p > 0,05$). Por fim, segundo o conhecimento dos produtores, o fato dos carrapatos sugarem o sangue dos búfalos foi considerado um fator de risco significativo (OR = 7,42), enquanto a idade dos animais, apesar de apresentar uma *odds ratio* de 1,14 (IC [0.02, 0.89]), não foi considerada um fator de risco relevante ($p > 0,05$).

5.6. Discussão

Dos 12 animais que apresentaram VG abaixo de 25%, apenas dois não apresentaram nenhum hemopatógeno detectado por PCR. Embora a redução do VG em alguns casos possa estar relacionada aos achados nos exames, é importante considerar que outros fatores também podem contribuir para a anemia. Isso inclui a infestação por ectoparasitos, que provoca perda crônica de sangue, bem como deficiências nutricionais, parasitismo gastrointestinal e outros fatores ambientais (Bastianetto *et al.*, 2011; Lateaf *et al.*, 2023).

No Brasil, a Tristeza Parasitária Bovina é causada por um complexo de doenças envolvendo, principalmente, os agentes *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*. Esses patógenos, endêmicos em áreas tropicais, são responsáveis por diversas perdas econômicas associadas à alta mortalidade e à redução na produtividade de rebanhos bovinos (Puentes & Riet-Correa, 2023; Souza *et al.*, 2021). No entanto, os impactos da Tristeza Parasitária na bubalinocultura ainda são pouco estudados, evidenciando a necessidade de estudos explorando sua ocorrência em búfalos no país.

A detecção de *A. marginale* em 65,34% (164/251) das amostras analisadas por nPCR sugere uma alta taxa de infecção entre os bubalinos avaliados. Embora o *primer* utilizado neste estudo seja capaz de amplificar sequências do gene *msh4* tanto de *A. marginale* quanto de *A. ovis* (Silveira *et al.*, 2012; Bauer *et al.*, 2021), a presença desta última espécie ainda não foi relatada no Brasil. Dessa forma, os resultados positivos são, provavelmente, atribuídos à presença de *A. marginale*. No entanto, para a confirmação da identidade dos isolados detectados, as amostras positivas serão submetidas a sequenciamento genético. A sua elevada taxa de infecção pode estar associada às diversas formas de transmissão do agente, muitas das quais ainda são pouco exploradas. Além da transmissão biológica por carrapatos, fontes importantes incluem a transmissão mecânica por moscas hematófagas, fômites contaminados e até mesmo a transmissão congênita (Foil, 1989; Kocan *et al.*, 2008; Andrade *et al.*, 2024). Esses fatores podem contribuir para a alta prevalência molecular observada, assim como a sorológica 35,85% (90/251).

Ao comparar os dados obtidos com estudos realizados em outros países para a mesma espécie de hospedeiro, observa-se uma variabilidade na prevalência da infecção por *A. marginale* em búfalos. No Sri Lanka, Zhyldyz *et al.* (2019) registraram uma prevalência de 57,5%, valor próximo ao identificado no presente estudo. Essa similaridade pode estar relacionada a fatores epidemiológicos como clima, manejo dos animais e presença de vetores transmissores. Em contrapartida, Mahmoud *et al.*, (2023) encontraram uma prevalência de 12% (9/75) no sul do Egito, um valor consideravelmente inferior. Essa diferença pode ser atribuída à utilização de *primers* diferentes na primeira triagem (groEL), além de possíveis variações na distribuição geográfica. Em Cuba, Obregón *et al.* (2019) detectaram uma prevalência geral nos animais para *A. marginale* de estudo de 78,96% por nPCR e 58,53% por iELISA, e para animais com menos de 14 meses de idade uma taxa de soropositividade de 60,3%. Esses valores foram altos assim como os deste estudo, o que pode estar relacionado à semelhança das regiões estudadas.

No Brasil, a prevalência de *A. marginale* em búfalos varia entre os estudos, geralmente sendo inferior à observada nesta pesquisa. No estado do Rio de Janeiro, Corrêa (2011) relatou prevalências de 6,5% (7/107) em bubalinos de até 12 meses por PCR convencional e 23,9% (28/117) por iELISA. Silva *et al.* (2014a) identificaram 10% (20/200) por PCR quantitativo baseado no gene *msh1a*, sem especificar a idade dos animais. No estado do Pará, Silva *et al.* (2014b) registraram apenas 2% utilizando

nested PCR. As diferenças entre esses estudos podem ser explicadas pelas variações metodológicas, a sensibilidade dos *primers* e as características de manejos da região. No Pará, os búfalos costumam ser criados em manejos extensivos e o contato com bovinos é menor. Além disso, neste estudo, foi utilizado um primer para o gene *msp4*, que apresenta maior variação de sequência e pode ser mais sensível para a detecção de *A. marginale* (de la Fuente *et al.*, 2001). Ademais, a utilização da *nested* PCR contribuiu para o aumento da sensibilidade do teste, possibilitando uma melhor detecção do patógeno.

Outro fator relevante para a variação na prevalência entre estudos é o tipo de população amostrada. Barbosa da Silva *et al.* (2014) identificaram, na Ilha do Marajó, uma prevalência molecular de 5,4% (27/500) por semi-nested PCR e uma soropositividade de 49% (245/500) nos búfalos. As diferenças nos resultados da PCR podem estar associadas à escolha do gene-alvo (*msp5*) e à idade dos animais estudados. Isso porque a infecção por *A. marginale* tende a apresentar baixa parasitemia em animais adultos, enquanto bezerros são considerados um grupo de risco para essas infecções. Já os valores sorológicos, apesar de terem sido obtidos por uma metodologia diferente da utilizada neste estudo, apresentaram um percentual ligeiramente superior. Isso pode estar relacionado ao fato de que os animais analisados eram adultos, possivelmente com maior tempo de exposição ao patógeno ao longo da vida, além da possibilidade do uso de uma técnica sorológica mais sensível. No presente estudo, ao contrário do observado por Barbosa da Silva *et al.* (2014), os resultados obtidos por RIFI foram inferiores aos da PCR, podendo estar relacionado à utilização de um conjugado anti-bovino, que pode ter subestimado a soropositividade nos búfalos avaliados.

As bactérias do gênero *Ehrlichia* sp. da família Anaplasmataceae, conhecidas por infectar monócitos e macrófagos, são responsáveis por importantes doenças em humanos, mamíferos domésticos e silvestres. Entre as espécies de maior relevância na medicina veterinária, especialmente em ruminantes domésticos e silvestres, destacam-se *E. ruminantium* e *E. minasensis* (Dumler *et al.*, 2001; Cabezas-Cruz *et al.*, 2016). No entanto, *E. ruminantium* não foi detectada por infecção natural em território brasileiro, devido à ausência de seu vetor biológico. Os dados obtidos neste estudo indicam que as amostras positivas provavelmente correspondem a *E. minasensis*, uma espécie previamente relatada em bovinos (Aguilar *et al.*, 2014) e equinos (Muraro *et al.*, 2021) no Brasil. Além disso, *E. minasensis* foi isolada de

R. microplus (Cabezas-Cruz *et al.*, 2016), o carrapato mais frequentemente detectado neste estudo. Vale ressaltar que os búfalos deste estudo compartilham habitat com bovinos e equinos, reforçando essa hipótese. Para confirmação da espécie, as amostras positivas serão sequenciadas, uma vez que, até o momento, trata-se apenas de resultados sugestivos.

As bactérias do gênero *Mycoplasma*, também conhecidas como hemoplasmas, são patógenos de importância tanto para a medicina veterinária quanto humana (Maggi *et al.*, 2013a; 2013b; Hornok *et al.*, 2011). Apesar de seus vetores ainda serem pouco conhecidos, estudos sugerem que o carrapato *R. microplus* pode desempenhar um papel relevante na sua transmissão. Em um estudo realizado na China, fêmeas de *R. microplus* naturalmente infectadas por 'C. M. haemobos' transmitiram o agente nos estágios de ovo e larva. Além disso, as larvas infectadas transmitiram o patógeno a camundongos durante a alimentação, e as larvas negativas adquiriram 'C. M. haemobos' de camundongos infectados. Os autores concluem que *R. microplus* podem servir como vetor e reservatório desse *Mycoplasma* (Shi *et al.*, 2019), além de piolhos, mosquitos e moscas hematófagas (Song *et al.*, 2013; Thongmeesee *et al.*, 2022). Por terem uma morfologia comum, o seu diagnóstico a campo (microscopia) se torna desafiador, fazendo com que o método diagnóstico padrão ouro seja a PCR.

A infecção em bovinos e bubalinos, principalmente por *M. wenyonii* e 'C. M. haemobos', possui distribuição global e com frequências variáveis, com relatos na América (de Mello *et al.*, 2019; Díaz-Sánchez *et al.*, 2019), Europa (Meli *et al.*, 2010; Ade *et al.*, 2018), África (Gonçalves *et al.*, 2018; Boularias *et al.*, 2020) e Ásia (Galon *et al.*, 2020; Tatsukawa *et al.*, 2021). No presente estudo, a prevalência de *Mycoplasma* spp. foi de 30,27% (76/251), com 1,59% (4/251) apresentando coinfeção por 'C. M. haemobos' e *M. wenyonii*, entretanto, estas também apresentaram coinfeção com outros patógenos. A prevalência de 'C. M. haemobos' foi de 24,70% (62/251), corroborando com os dados de Su *et al.* (2010), na China, com 32% (8/25) de positividade. Em contrapartida, Santos *et al.* (2018), na região nordeste do Brasil, relataram uma prevalência substancialmente maior, de 84,15% (85/101), enquanto Erol *et al.* (2023), na Turquia, registraram apenas 2,22% (8/360). Quanto a *M. wenyonii*, a prevalência observada neste estudo foi consideravelmente inferior à reportada na literatura, como em Santos *et al.* (2018), que identificaram uma prevalência de 94,05% (95/101), chegando mais próximo de Erol *et al.* (2023), que encontraram apenas 3,89% (14/360). Outro ponto relevante foi a ausência de sinais

clínicos em animais positivos, corroborando o relato de Ybañez *et al.* (2019). Essas discrepâncias podem ser atribuídas a fatores regionais, como a presença e a diversidade de vetores, práticas de manejo e diferenças no clima local, além dos métodos diagnósticos utilizados.

Além disso, todos os animais que apresentaram coinfeções com o gênero *Mycoplasma* mostraram um volume globular menor que 25%, o que reforça a hipótese de que outros hemopatógenos podem agravar os quadros clínicos dessa infecção, sendo que aqueles animais que apresentaram essa bactéria isoladamente, não tiveram alterações hematológicas, corroborando com outros estudos (Hofmann-Lehmann *et al.*, 2004; Meli *et al.*, 2010; Hornok *et al.*, 2011).

A infecção por *Babesia* spp. foi detectada em 8,3% (21/251) dos casos para *B. bovis* e em 3,6% (9/251) para *B. bigemina*, através de métodos moleculares. Esses achados estão em conformidade com a literatura, que indica prevalências de *B. bovis* e *B. bigemina* em búfalos sul-americanos variando entre 3,6% e 34% e entre 1% e 17,7%, respectivamente (da Silva *et al.*, 2013; Jaimes-Dueñez *et al.*, 2018; Silveira *et al.*, 2016). Ainda que a prevalência de *B. bigemina* seja maior em rebanhos bovinos, uma maior prevalência de *B. bovis* tem sido reportada em búfalos da América do Sul (Jaimes-Dueñez *et al.*, 2018; Silveira *et al.*, 2016). Esse padrão pode estar relacionado à baixa recuperação de ínstares maduros de *R. microplus*, o vetor biológico destes piroplasmas, em hospedeiros bubalinos e, conseqüentemente, uma maior infestação por ínstares larvais, assim como observado no capítulo 1 deste estudo.

Embora *B. bovis* seja mais patogênica representando um risco potencial para surtos, os bubalinos parecem atuar como hospedeiros silenciosos desse piroplasma, já que raramente apresentam sinais clínicos (Mahmmod, 2013). Estudos experimentais demonstraram que esses animais são capazes de mitigar significativamente os sinais clínicos das infecções por *B. bovis*, além de reduzir substancialmente e/ou eliminar os merozoítos de *B. bovis* da circulação, por meio de um mecanismo eficiente de imunidade inata (Benitez *et al.*, 2018). No entanto, dois bezerros parasitados apresentaram valores de hematócrito abaixo do padrão, o que pode estar associado à janela de suscetibilidade relacionada à faixa etária estudada (Chase *et al.*, 2008), indicando que, apesar de incomum, os bubalinos podem manifestar sinais clínicos de infecção por *B. bovis*.

Obregón *et al.* (2019), ao realizar iELISA em bezerros bubalinos, relataram um aumento progressivo da soropositividade para *Babesia* spp. com a idade, registrando

prevalências de 38,1% para *B. bovis* e 41,3% para *B. bigemina*, valores que corroboram com os encontrados neste estudo, onde *B. bigemina* (43,42%) apresentou uma soroprevalência consideravelmente maior que *B. bovis* (18,32%). No Egito, resultados semelhantes foram obtidos por Ibrahim *et al.* (2021), onde a soroprevalência por ELISA em búfalos com menos de três anos de idade foi de 45,45% para *B. bigemina* e 40,9% para *B. bovis*. Além deles, Yousef *et al.* (2024) relataram prevalências sorológicas de 48,8% e 16,8% para *B. bigemina* e *B. bovis* através do ELISA. Essa similaridade com os achados do presente estudo pode estar relacionada à patogenicidade das espécies, à interferência da imunidade passiva e pela presença endêmica dos seus vetores biológicos.

O complexo *T. orientalis* é responsável, na maioria dos casos, por infecções assintomáticas em ruminantes (Watts *et al.* 2016). No entanto, surtos associados à infecção pelo grupo *T. orientalis*, acarretando perdas econômicas, já foram relatados na Austrália, Estados Unidos e Nova Zelândia (Lane *et al.*, 2015; Oakes *et al.*, 2019; Perera *et al.*, 2014). Embora não tenha sido possível identificar esse parasito neste estudo, o complexo já foi detectado em búfalos do Norte e Nordeste do Brasil (Abate *et al.*, 2018; Silveira *et al.*, 2016). Portanto, a ausência de *Theileria* spp. pode estar relacionada à área geográfica avaliada, indicando que o agente ainda não foi introduzido no Sudeste do país.

Em relação aos métodos diagnósticos utilizados no presente estudo, foi observada uma menor positividade no esfregaço sanguíneo em comparação à PCR. Essa diferença pode ser atribuída ao menor n amostral avaliado e à limitação do exame de esfregaço de sangue, cuja sensibilidade é reduzida especialmente em situações de baixa parasitemia (Chappuis *et al.*, 2005). A dificuldade de detecção de parasitos ocorre tanto nos estágios iniciais da infecção quanto em casos crônicos, quando a carga parasitária é muito baixa (Ereqat *et al.*, 2020). Apesar de ser um método rápido e econômico, apresenta limitações significativas, como observado por Friedhoff & Bose (1994), que a coloração de Giemsa, embora útil na detecção de *Theileria* em infecções clínicas agudas, não é adequada para identificar portadores assintomáticos. Da mesma forma, Noaman & Shayan (2010) relataram que a diferenciação microscópica de *A. marginale* pode ser dificultada por estruturas semelhantes, como corpos de Heinz e corpos de Howell-Jolly, levando a possíveis erros diagnósticos.

A baixa sensibilidade da microscopia óptica fica evidente ao comparar seus resultados com a PCR. Noaman (2014) relatou que a análise de 50 campos microscópicos apresentou apenas 57% de sensibilidade, enquanto a PCR demonstrou 100% de sensibilidade e especificidade. Isso reforça que a PCR é a técnica mais adequada para o diagnóstico, especialmente em casos de baixa parasitemia, pois permite a amplificação do material genético do patógeno, garantindo maior precisão na detecção.

Notavelmente, os níveis de parasitemia observados neste estudo não ultrapassaram 0,23%, corroborando com estudos anteriores que destacam a baixa parasitemia característica em búfalos infectados por hemopatógenos. Como Obregón *et al.* (2018) relataram uma parasitemia de 0,002% em búfalos, enquanto em bovinos mantidos sob as mesmas condições de pastejo, a parasitemia alcançou 0,01%. Além deste, Ashuma *et al.* (2013) não detectaram *A. marginale* em esfregaços sanguíneos de búfalos, mesmo em amostras positivas por PCR.

A menor parasitemia observada em búfalos em comparação aos bovinos é amplamente reconhecida na literatura, conforme evidenciado também por Benitez *et al.* (2018), que não encontraram parasitemia em esfregaços corados por Giemsa em búfalos infectados experimentalmente com *B. bovis*, embora tenham identificado anticorpos específicos. A maior resistência dos búfalos a doenças provindas de bovinos, mesmo em condições de instabilidade endêmica, é amplamente reconhecida (Terkawi *et al.*, 2011; Sivakumar *et al.*, 2014). Estudos como o de Mahmmoud (2013) demonstraram que búfalos apresentam menor parasitemia e sinais clínicos mais brandos quando comparados a bovinos experimentalmente infectados com *B. bovis*, atribuindo essa diferença a mecanismos imunológicos inatos, como a produção esplênica de IFN- γ e óxido nítrico, controlando assim a infecção (Goff *et al.*, 2010; Rodriguez *et al.*, 2013). Essa importância foi observada em um estudo feito por Yao *et al.* (1997), onde búfalos infectados experimentalmente com *B. bovis* após esplenectomia, apresentaram alta parasitemia e sinais clínicos graves.

Evidências sugerem ainda que essa resiliência dos búfalos pode ter uma base evolutiva. Schnittger & Florin-Christensen (2018) apontam que a coevolução entre búfalos e hemopatógenos favoreceu o desenvolvimento de infecções inaparentes, o que reduz os danos ao hospedeiro enquanto permite a perpetuação e transmissão dos parasitos. Portanto, os búfalos possuem mecanismos imunológicos eficientes, capazes de neutralizar ou minimizar os efeitos da infecção por hemopatógenos como

A. marginale e *Babesia* spp. Essa capacidade resulta em baixas taxas de parasitemia, embora ainda sejam suficientes para infectar vetores como *R. microplus* (Scoles *et al.*, 2008).

As três propriedades que não apresentaram carrapatos nos bezerros avaliados durante a visita, foram negativas para ambas as espécies de *Babesia* spp. em PCR. Esse dado pode estar relacionado pelo fator de *R. microplus* ser o principal vetor deste hemoparasito. Além disso, nessas propriedades foi detectado DNA de *A. marginale* e *Mycoplasma* spp., sugerindo também que para essas espécies, outros vetores também são importantes na transmissão, como moscas hematófagas e piolhos sugadores. A espécie de carrapato encontrada em todas as 14 propriedades restantes foi *R. microplus*, mostrando-se uma espécie predominante entre os rebanhos do estudo, o que corrobora com os dados apresentados por Obregón *et al.* (2020), que relataram alta carga parasitária de *R. microplus* em rebanhos de bezerros bubalinos em Cuba. Além do mais, como já esperado, a espécie de piolho *H. tuberculatus* foi a única identificada, sendo esta a espécie específica de bubalinos, assim como demonstrado por outros estudos (Ferreira Neto *et al.*, 2024).

É importante destacar que os animais avaliados neste estudo tinham entre zero e 12 meses de idade, o que implica a influência da imunidade passiva adquirida por meio do colostro materno (De Souza *et al.*, 2020). Dessa forma, os resultados obtidos nos exames sorológicos, quando comparados aos dados do questionário, podem refletir essa variável, influenciando a interpretação da soropositividade e a sua dinâmica nas populações estudadas. Além disso, cada propriedade adota práticas de manejo distintas, o que também pode influenciar nos rebanhos, tornando essencial a consideração desses fatores na interpretação dos resultados.

A anaplasmose em bubalinos é influenciada por diversos fatores de risco, incluindo idade, manejo, formas de transmissão, uso de acaricidas e condições ambientais. Os resultados deste estudo indicaram que a idade dos búfalos foi um fator de risco significativo para soropositividade de *A. marginale*, essa observação está alinhada com o estudo de Gattan *et al.* (2025) no Delta do Nilo, Egito, que encontrou uma maior soroprevalência desse agente em animais acima de oito anos (22,92%). Essa associação pode estar relacionada à imunidade adquirida ao longo da vida e à frequente exposição ao patógeno. No entanto, o estudo de Obregón *et al.* (2019) em Cuba demonstrou uma tendência oposta, com bezerros apresentando maior prevalência dessa infecção (71,4%) quando comparados a jovens e adultos,

sugerindo interferência de alguns fatores como a imunidade passiva, que reflete a falta de necessidade do contato destes com o patógeno para serem soropositivos.

Outro risco relevante foi o uso de abamectina no controle de carrapatos, podendo indicar que o uso frequente deste acaricida pode não ser eficaz para reduzir a população de vetores ou que ocorra a resistência dos carrapatos ao produto. Apesar de não ser relatado na literatura o uso dessa base como um fator de risco para *A. marginale*, sabe-se que o uso inadequado de acaricidas no tratamento de ectoparasitos pode gerar um impacto na dinâmica populacional destes e na seleção de resistência. Rodríguez-Vivas *et al.* (2014) relataram que carrapatos *R. microplus* desenvolveram resistência a múltiplas classes de acaricidas, incluindo lactonas macrocíclicas como a abamectina, devido ao uso intensivo desses produtos. Além disso, Gattan *et al.* (2025) demonstraram que a soroprevalência de *A. marginale* foi maior em animais que não receberam tratamento acaricida da forma adequada (17,70%). Por fim, Sharma *et al.* (2015) no Punjab, Índia, relataram que regiões com alta densidade de carrapatos eram quatro vezes mais propensas à infecção por *A. marginale*, reforçando a importância do controle adequado desses ectoparasitos.

Foi observado que bezerros machos apresentaram um risco de soropositividade, o que contrasta com os resultados obtidos por Gattan *et al.* (2025), no Egito, que observaram uma maior soroprevalência de *A. marginale* em fêmeas, atribuindo esse achado a fatores hormonais associados à produção leiteira e à função reprodutiva, que podem comprometer a resposta imunológica desses animais. Entretanto, Sampaio (2004) relata que as fêmeas possuem uma resposta imunológica mais eficiente que machos. Essa discrepância pode estar relacionada ao maior número amostral de fêmeas no estudo de Gattan *et al.* (2025) ou a diferenças fisiológicas entre os sexos e idade. Pois, fêmeas adultas, em períodos de pré-parto e lactação, podem levar a desequilíbrios hormonais, resultando em uma queda na imunidade e aumentando a suscetibilidade.

Além disso, verificou-se que infestações por carrapatos durante a época seca, quando sua densidade é naturalmente reduzida devido às condições climáticas, atuaram como um fator de proteção para soropositividade de *A. marginale*. Esse achado corrobora os resultados de Obregón *et al.* (2018), que sugeriram que a prevalência desse agente em bubalinos está mais relacionada a fatores ambientais e ao manejo do que a características biológicas isoladas. E ainda, Gattan *et al.* (2025) observaram uma maior soroprevalência durante o verão e o outono, atribuindo esse

aumento à umidade elevada e à consequente proliferação dos vetores. No entanto, Batista *et al.* (2018) apontaram que, em ambientes secos, a infestação por carrapatos pode ser intensificada devido à ausência de lama, que normalmente serve como barreira protetora para os búfalos. Essa variação sugere que a influência do clima na dinâmica da infestação depende do grau de estabilidade enzoótica da região estudada.

Os resultados deste estudo indicaram que de acordo com a percepção do proprietário, altas infestações de carrapatos aumentam as chances de soropositividade de *B. bovis* e *B. bigemina*. Esse achado reforça a importância do controle adequado de carrapatos na prevenção da babesiose por serem potenciais vetores, conforme evidenciado por Batista *et al.* (2018) no Pará, e por Yousef *et al.* (2024) no Egito, que identificaram a presença de carrapatos como um dos principais fatores de risco para a infecção em bubalinos. Além disso, esse fator leva diretamente ao manejo do controle de carrapatos, como o uso da abamectina, que também foi associado a um risco elevado para *B. bovis*, o que pode ser explicado pela seleção de carrapatos resistentes conforme relatado anteriormente. Já a doramectina demonstrou um efeito protetor tanto para *B. bovis* quanto para *B. bigemina*, possivelmente devido à sua maior eficácia no controle de *R. microplus*, reduzindo a exposição ao vetor.

No que se refere ao sistema de criação, tanto o manejo intensivo quanto o semiextensivo foram associados a uma menor soropositividade para ambas as espécies. Esse achado pode ser explicado pela redução do contato com carrapatos em sistemas mais controlados, conforme relatado por Silva *et al.* (2014b).

A presença de bovinos na propriedade foi identificada como um fator de risco para soroprevalência de *B. bovis*, o que pode estar relacionado ao fato de serem os hospedeiros preferenciais de *R. microplus* e *B. bovis* mantendo gerações de carrapatos infectados com o protozoário. Esse resultado corrobora com Ferreri *et al.* (2008), Romero-Salas *et al.* (2016) e Obregón *et al.* (2019), que sugeriram que a coabitação de bovinos e búfalos em áreas endêmicas pode facilitar a transmissão cruzada de patógenos transmitidos por carrapatos. Além disso, a sazonalidade teve impacto na sua soroprevalência, com infestações durante a estação chuvosa sendo classificadas como fator de risco. Esse achado também pode estar relacionado ao aumento da densidade populacional de carrapatos em períodos de maior umidade, facilitando a transmissão do protozoário (Gattan *et al.*, 2025). Por

fim, observou-se uma relação inversa entre idade e soropositividade para essa espécie, sugerindo que animais mais jovens apresentam maior probabilidade de serem soropositivos. Essa constatação pode estar relacionada à imunidade passiva, conferida pela transferência de anticorpos maternos através do colostro. A presença de anticorpos maternos em animais jovens pode gerar resultados positivos em testes sorológicos, sem que isso signifique que o animal tenha sido infectado pelo patógeno em algum momento da vida. Essa relação contrasta com os achados de Obregón *et al.* (2019), que relataram um aumento gradual da soroprevalência de *B. bovis* com o avanço da idade em bovinos. Essa divergência entre os estudos pode ser atribuída a diversos fatores, como diferenças nas populações de animais estudadas, nas metodologias sorológicas utilizadas, nas condições de manejo e na endemicidade da doença nas diferentes regiões.

Para *B. bigemina*, a idade foi identificada como um fator de risco, evidenciando que a soropositividade aumenta conforme os animais envelhecem. Isso pode ser explicado pelo maior tempo de exposição aos carrapatos infectados e pela redução gradual da imunidade passiva adquirida via colostro, tornando os bezerros mais suscetíveis a novas infecções e permitindo o desenvolvimento de uma imunidade adquirida mais eficaz. Esse resultado é consistente com o estudo de Obregón *et al.* (2019), que também observou um aumento na soroprevalência de *B. bigemina* com a idade, de bezerros a animais adultos. Esse padrão sugere que a infecção ocorre ao longo da vida, frequentemente de forma subclínica, contribuindo para a manutenção do agente nos rebanhos. Outro fator de risco identificado foi o uso de tratamentos injetáveis para controle de carrapatos, especialmente quando os intervalos entre aplicações eram superiores a 120 dias. Esse achado pode indicar falhas no controle da população de carrapatos, permitindo maior transmissão do patógeno e resultando em maior soropositividade nos animais. Além disso, a administração frequente de medicamentos injetáveis pode induzir estresse fisiológico, comprometendo a resposta imune e aumentando a suscetibilidade à infecção, conforme descrito por Costa *et al.* (2013) para *A. marginale*. A percepção dos produtores sobre a transmissão do patógeno revelou que o conhecimento de que os carrapatos se alimentam do sangue dos búfalos está relacionado à soropositividade para *B. bigemina*. Esse achado sugere que os proprietários reconhecem corretamente a associação entre a alimentação dos carrapatos e a transmissão de patógenos, uma vez que a infecção ocorre durante o repasto sanguíneo. A rápida ingurgitação das fêmeas adultas e os

casos de anemia em animais infestados podem ter reforçado essa percepção. Esse conhecimento empírico dos produtores está alinhado com a biologia do carrapato, destacando que um controle eficiente da infestação é essencial para a prevenção da babesiose nos rebanhos bubalinos.

Os resultados deste estudo corroboram a influência de fatores como idade, uso de acaricidas, sexo, sazonalidade, infestação por carrapatos, manejo e presença de bovinos na soroprevalência de *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* em bubalinos. No entanto, as divergências entre regiões e espécies evidenciam a necessidade de considerar fatores epidemiológicos locais e estratégias específicas para cada sistema de produção. Estudos adicionais são essenciais para compreender melhor essas interações e aprimorar os programas de controle da anaplasmosse e babesiose em bubalinos.

Neste estudo, os fatores de risco foram analisados em associação à soroprevalência dos hemopatógenos causadores da TPB, destacando a influência de variáveis como idade, manejo e condições ambientais na dinâmica das infecções. É fundamental ressaltar que a imunidade passiva desempenha um papel importante nesses resultados, considerando a faixa etária dos animais estudados. Dessa forma, a resposta sorológica observada reflete não apenas o contato prévio dos bezerros com os agentes pesquisados, mas também a transferência de imunidade passiva das mães para a prole. Essa interação ressalta a importância da sorologia como ferramenta diagnóstica para avaliar a distribuição desses agentes no rebanho. Assim, essa análise foi essencial para uma compreensão mais aprofundada da dinâmica dessas infecções nas populações avaliadas. Vale destacar ainda que, para experimentos futuros, a estratificação mais detalhada dos bezerros por faixas etárias poderá oferecer uma visão mais precisa sobre a influência da imunidade passiva e o momento de exposição aos hemopatógenos.

Algumas limitações foram identificadas ao longo deste estudo. O tamanho amostral final foi inferior ao inicialmente calculado, devido à dificuldade em contatar os proprietários das propriedades selecionadas. Além disso, o cálculo amostral foi baseado nos registros de animais de 2022, o que pode ter afetado a representatividade da amostra, considerando que, no momento das visitas, realizadas no segundo semestre de 2024, alguns produtores poderiam não estar mais cadastrados ou ativos. Outra limitação relevante foi a distribuição etária dos animais amostrados, uma vez que a seleção seguiu um critério aleatório, resultando em baixa

representatividade de animais com menos de dois meses de vida, possivelmente devido à sazonalidade reprodutiva dos búfalos. A combinação desses fatores pode ter influenciado a generalização dos resultados, ressaltando a necessidade de estudos futuros que adotem um planejamento amostral mais rigoroso e um acompanhamento mais próximo das propriedades envolvidas.

Outro aspecto importante observado no estudo foi a grande variação nos resultados entre as propriedades analisadas. Essa heterogeneidade reforça a complexidade da epidemiologia dos hemopatógenos transmitidos por carrapatos, cuja ocorrência está intimamente ligada às características específicas de cada fazenda. Embora todas as propriedades apresentassem histórico com bovinos — seja por ainda manterem rebanhos, por já terem criado anteriormente ou por estarem localizadas próximas a áreas com pastagens de bovinos —, os resultados indicaram que a dinâmica de infecção e os fatores de risco associados são distintos entre elas. A proximidade entre pastos de diferentes propriedades pode permitir o trânsito de carrapatos e até mesmo de animais, contribuindo para a manutenção e disseminação desses agentes. Além disso, práticas de manejo e uso de carrapaticidas são variáveis que podem influenciar significativamente os níveis de infecção. Portanto, discutir essas diferenças entre propriedades é essencial, pois cada fazenda é um sistema único, com seus próprios desafios e vulnerabilidades, exigindo medidas de controle adaptadas à sua realidade.

Em resumo, os resultados indicam a presença de carrapatos *R. microplus* e piolhos *H. tuberculatus* nos bezerros búfalos da região estudada e uma alta circulação dos hemopatógenos, com diferenças metodológicas influenciando a detecção pelos testes laboratoriais. A alta soroprevalência sugere ampla exposição, enquanto a PCR revelou infecções ativas, especialmente por *A. marginale*. Além disso, a relação entre fatores de risco e prevalência reforça a necessidade de estratégias integradas de controle, considerando o manejo de vetores e a identificação de animais cronicamente infectados.

5.7. Conclusão

Os resultados deste estudo evidenciam:

A presença do carrapato *R. microplus*, do piolho *H. tuberculatus* e hemopatógenos como *Anaplasma marginale*, *Ehrlichia* sp. (monócitos), *Mycoplasma wenyonii*,

'C. M. haemobos', *Babesia bovis* e *B. bigemina* em bezerros bubalinos de até 12 meses de idade na microrregião de Bom Despacho, MG. Além disso, a ocorrência dos agentes *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* nos bezerros bubalinos está associada com a infestação de *R. microplus* e falhas no seu controle.

5.8. Referências:

- Abate, H. L., Santos, N. J. R. D., Brito, D. R. B., Valente, J. D. M., Vieira, T. S. W. J., Garcia, J. L., Vieira, R. F. D. C., & Vidotto, O. (2018). *Theileria* sp. in water buffaloes from Maranhão State, northeastern Brazil. *Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 27(4), 593–596. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180075>
- Ade, J., Niethammer, F., Schade, B., Schilling, T., Hoelzle, K., & Hoelzle, L. E. (2018). Quantitative analysis of *Mycoplasma wenyonii* and "Candidatus *Mycoplasma haemobos*" infections in cattle using novel gapN-based realtime PCR assays. *Veterinary microbiology*, 220, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.028>
- Aguiar, D. M., Ziliani, T. F., Zhang, X., Melo, A. L., Braga, I. A., Witter, R., Freitas, L. C., Rondelli, A. L., Luis, M. A., Sorte, E. C., Jaune, F. W., Santarém, V. A., Horta, M. C., Pescador, C. A., Colodel, E. M., Soares, H. S., Pacheco, R. C., Onuma, S. S., Labruna, M. B., & McBride, J. W. (2014). A novel *Ehrlichia* genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. *Ticks and tick-borne diseases*, 5(5), 537–544. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.03.010>
- Andrade, L. S., de Souza, R. S., Carvalho de Araujo, A., Silva, S. O., Melo, M. N., Melo, F. G., Ribeiro, G. H. S., de Sousa, F. G., Bastos, C. V., Moreira, T. F., Meneses, R. M., Carvalho, A. U., Facury-Filho, E. J., & Silveira, J. A. G. (2024). Hemopathogens in naturally infected bovine fetuses in Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, 15(5), 102351. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2024.102351>
- Ashuma, Sharma, A., Singla, L. D., Kaur, P., Bal, M. S., Batth, B. K., & Juyal, P. D. (2013). Prevalence and haemato-biochemical profile of *Anaplasma marginale* infection in dairy animals of Punjab (India). *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 6(2), 139–144. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60010-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60010-3)
- Barbosa da Silva, J., Vinhote, W. M., Oliveira, C. M., André, M. R., Machado, R. Z., da Fonseca, A. H., & Barbosa, J. D. (2014). Molecular and serological prevalence of *Anaplasma marginale* in water buffaloes in northern Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, 5(2), 100–104. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.09.007>
- Bastianetto, E., Melo, M. M., & Leite, R. C. (2011). Hemogram of buffaloes (*Bubalus bubalis*) wormed and nonwormed by helminthes. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 18(2-3).
- Batista, H. R., Sarturi, C., Stelmachtchuk, F. N., Oliveira, D. R., Morini, A. C., Gennari, S. M., Marcili, A., Bastos, F. A. N., Barata, L. E. S., & Minervino, A. H. H. (2018). Prevalence and risk factors associated with ectoparasite infestation of buffaloes in an

Amazonian ecosystem. *Parasites & vectors*, 11(1), 335.
<https://doi.org/10.1186/s13071-018-2917-2>

Bauer, B. U., Răileanu, C., Tauchmann, O., Fischer, S., Ambros, C., Silaghi, C., & Ganter, M. (2021). *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma ovis*-Emerging Pathogens in the German Sheep Population. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(10), 1298. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101298>

Benitez, D., Mesplet, M., Echaide, I., Torioni de Echaide, S., Schnittger, L., & Florin-Christensen, M. (2018). Mitigated clinical disease in water buffaloes experimentally infected with *Babesia bovis*. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(5), 1358–1363. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.04.012>

Bernardes, W (1997). Bubalinocultura leiteira no Brasil: tendências, parcerias e fomento. Instituto de Pesquisas Agrárias e Ambientais de Ingá. Acesso: <http://www.ingai.agr.br/x/parceria.htm>

Boularias, G., Azzag, N., Gandoin, C., Bouillin, C., Chomel, B., Haddad, N., & Boulouis, H. J. (2020). Bovines Harbor a Diverse Array of Vector-Borne Pathogens in Northeast Algeria. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(11), 883. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110883>

Cabezas-Cruz, A., Zwegarth, E., Vancová, M., Broniszewska, M., Grubhoffer, L., Passos, L. M. F., Ribeiro, M. F. B., Alberdi, P., & de la Fuente, J. (2016). *Ehrlichia minasensis* sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(3), 1426–1430. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000895>

Camargo, F. C. de. (1973). *A origem e dispersão do gado bovino e bubalino no mundo* (FL-00094). IPEAN. Seminários técnicos. EMBRAPA.

Chappuis, F., Loutan, L., Simarro, P., Lejon, V., & Büscher, P. (2005). Options for field diagnosis of human african trypanosomiasis. *Clinical microbiology reviews*, 18(1), 133–146. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.1.133-146.2005>

Chase, C. C., Hurley, D. J., & Reber, A. J. (2008). Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 24(1), 87–104. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.11.001>

Corrêa F.N. 2011. Estudo epidemiológico de *Borrelia burgdorferi*, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em búfalos (*Bubalus bubalis*) do Estado do Rio de Janeiro. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro. 99p.

Costa, L. M., Jr, Rembeck, K., Ribeiro, M. F., Beelitz, P., Pfister, K., & Passos, L. M. (2007). Sero-prevalence and risk indicators for canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 174(3), 673–676. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.11.002>

Costa, V. M., Ribeiro, M. F., Duarte, A. L., Mangueira, J. M., Pessoa, A. F., Azevedo, S. S., Barros, A. T., Riet-Correa, F., & Labruna, M. B. (2013). Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian

semiarid region. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 22(2), 207–213. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612013005000022>

Criado-Fornelio, A., Martinez-Marcos, A., Buling-Saraña, A., & Barba-Carretero, J. C. (2003). Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study. *Veterinary microbiology*, 93(4), 307–317. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(03\)00044-0](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(03)00044-0)

da Silva, J. B., André, M. R., da Fonseca, A. H., de Albuquerque Lopes, C. T., da Silva Lima, D. H., de Andrade, S. J., Oliveira, C. M., & Barbosa, J. D. (2013). Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the north region of Brazil. *Veterinary parasitology*, 197(3-4), 678–681. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.05.020>

de la Fuente, J., Blouin, E. F., Manzano-Roman, R., Naranjo, V., Almazán, C., Pérez de la Lastra, J. M., Zivkovic, Z., Massung, R. F., Jongejan, F., & Kocan, K. M. (2008). Differential expression of the tick protective antigen subolesin in *Anaplasma marginale*- and *A. phagocytophilum*-infected host cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1149, 27–35. <https://doi.org/10.1196/annals.1428.056>

de la Fuente, J., Van Den Bussche, R. A., & Kocan, K. M. (2001). Molecular phylogeny and biogeography of North American isolates of *Anaplasma marginale* (Rickettsiaceae: Ehrlichieae). *Veterinary parasitology*, 97(1), 65–76. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00378-8](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00378-8)

de Mello, V. V. C., de Souza Ramos, I. A., Herrera, H. M., Mendes, N. S., Calchi, A. C., Campos, J. B. V., Macedo, G. C., Alves, J. V. A., Machado, R. Z., & André, M. R. (2019). Occurrence and genetic diversity of hemoplasmas in beef cattle from the Brazilian Pantanal, an endemic area for bovine trypanosomiasis in South America. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 66, 101337. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101337>

de Souza, D. C., da Silva, D. G., Fonseca, L. C. C., de Castro Fiori, L., Monteiro, B. M., Bernardes, O., Viana, R. B., & Fagliari, J. J. (2020). Transferência de imunidade passiva em búfalos (*Bubalus bubalis*). *Fronteiras na ciência veterinária*, 7, 247. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00247>

Díaz-Sánchez, A. A., Corona-González, B., Meli, M. L., Álvarez, D. O., Cañizares, E. V., Rodríguez, O. F., Rivero, E. L., & Hofmann-Lehmann, R. (2019). First molecular evidence of bovine hemoplasma species (*Mycoplasma* spp.) in water buffalo and dairy cattle herds in Cuba. *Parasites & vectors*, 12(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3325-y>

Dumler, J. S., Barbet, A. F., Bekker, C. P., Dasch, G. A., Palmer, G. H., Ray, S. C., Rikihisa, Y., & Rurangirwa, F. R. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(Pt 6), 2145–2165. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145>

- Ereqat, S., Nasereddin, A., Al-Jawabreh, A., Al-Jawabreh, H., Al-Laham, N., & Abdeen, Z. (2020). Prevalence of *Trypanosoma evansi* in livestock in Palestine. *Parasites & vectors*, 13(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3894-9>
- Erol, U., Sahin, O. F., & Altay, K. (2023). Molecular prevalence of bovine hemoplasmosis in Turkey with first detection of *Mycoplasma wenyonii* and *Candidatus Mycoplasma haemobos* in cattle and water buffalo. *Veterinary research communications*, 47(1), 207–215. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09943-2>
- Estrada-Peña, A., & de la Fuente, J. (2014). The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral research*, 108, 104–128. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.05.016>.
- Figuerola, J. V., Chievas, L. P., Johnson, G. S., & Buening, G. M. (1993). Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. *Veterinary parasitology*, 50(1-2), 69–81. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90008-b](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90008-b)
- Fontes, D. G., Monteiro, M. V. B., Jorge, E. M., Oliveira, C. M. C., Ritter, R. A., Barbosa Neto, J. D., Silva Filho, E. da ., & Monteiro, F. O. B. (2014). Perfil hematológico e bioquímico de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Oriental. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34, 57–63. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014001300011>
- Friedhoff, K., & Böse, R. (1994). Recent developments in diagnostics of some tick-borne diseases.
- Galon, E. M. S., Ybañez, R. H. D., Adjou Moumouni, P. F., Tumwebaze, M. A., Fabon, R. J. A., Callanta, M. R. R., Labutong, K. J. E., Salazar, G. B., Liu, M., Li, J., Byamukama, B., Li, Y., Ji, S., Lee, S. H., Ybañez, A. P., Claveria, F. G., & Xuan, X. (2020). Molecular survey of tick-borne pathogens infecting backyard cattle and water buffaloes in Quezon province, Philippines. *The Journal of veterinary medical science*, 82(7), 886–890. <https://doi.org/10.1292/jvms.19-0636>
- Gattan, H. S., Marzok, M., AlJabr, O. A., Alruhaili, M. H., Salem, M., & Selim, A. (2025). Seroprevalence and Risk Factors of *Anaplasma marginale* in Water Buffaloes in Nile Delta of Egypt. *Acta parasitologica*, 70(1), 48. <https://doi.org/10.1007/s11686-024-00945-5>
- Goff, W. L., Bastos, R. G., Brown, W. C., Johnson, W. C., & Schneider, D. A. (2010). The bovine spleen: interactions among splenic cell populations in the innate immunologic control of hemoparasitic infections. *Veterinary immunology and immunopathology*, 138(1-2), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2010.07.006>
- Gonçalves, L. R., Teixeira, M. M. G., Rodrigues, A. C., Mendes, N. S., Matos, C. A., Pereira, C. L., , Machado, R. S., André, M. R. (2018). Molecular detection of *Bartonella* species and haemoplasmas in wild African buffalo (*Syncerus caffer*) in Mozambique, Africa. *Parasitology Open*, 4, e15. doi:10.1017/pao.2018.10
- Hofmann-Lehmann, R., Meli, M. L., Dreher, U. M., Gönczi, E., Deplazes, P., Braun, U., Engels, M., Schüpbach, J., Jörgen, K., Thoma, R., Griot, C., Stärk, K. D., Willi, B., Schmidt, J., Kocan, K. M., & Lutz, H. (2004). Concurrent infections with vector-borne pathogens associated with fatal hemolytic anemia in a cattle herd in Switzerland. *Journal of clinical microbiology*, 42(8), 3775–3780. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3775-3780.2004>

Hornok, S., Micsutka, A., Meli, M. L., Lutz, H., & Hofmann-Lehmann, R. (2011). Molecular investigation of transplacental and vector-borne transmission of bovine haemoplasmas. *Veterinary microbiology*, 152(3-4), 411–414. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.04.031>

IBGE (2023). Rebanho Bubalino no Brasil. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bubalinos/br>. Acesso em: 9 jan. 2025.

Ibrahim, H. M., Galon, E. M. S., Tumwebaze, M. A., Byamukama, B., Liu, M., Mohammed-Geba, K., Sheir, S. K., Galal-Khallaf, A., Latif, H. M. A. E., Morsi, D. S., Bishr, N. M., & Xuan, X. (2021). Serological Survey of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in Cattle and Water Buffaloes from Menoufia Province, Egypt. *Acta parasitologica*, 66(4), 1458–1465. <https://doi.org/10.1007/s11686-021-00338-y>

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 1987. Técnicas para el diagnostico de babesiosis y anaplasmosis bovinas 79.

Jaimes-Dueñez, J., Triana-Chávez, O., Holguín-Rocha, A., Tobon-Castaño, A., & Mejía-Jaramillo, A. M. (2018). Molecular surveillance and phylogenetic traits of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle (*Bos taurus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Colombia. *Parasites & vectors*, 11(1), 510. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3091-2>

Kawahara, M., Tajima, T., Torii, H., Yabutani, M., Ishii, J., Harasawa, M., Isogai, E., & Rikihisa, Y. (2009). *Ehrlichia chaffeensis* infection of sika deer, Japan. *Emerging infectious diseases*, 15(12), 1991–1993. <https://doi.org/10.3201/eid1512.081667>

Lane, J., Jubb, T., Shephard, R., Webb-Ware, J., & Fordyce, G. (2015). Priority list of endemic diseases for the red meat industries.

Lateaf, K., Allawi, M. H., & Akmoosh, N. J. (2023). Phenotypic Classification and Clinical Examination of Anemia in Iraqi Water Buffalo in Nasiriyah Governorate. *Journal of Buffalo Science*, 12, 103-110.

Liu, J., Guan, G., Liu, A., Li, Y., Yin, H., & Luo, J. (2014). A PCR method targeting internal transcribed spacers: the simultaneous detection of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle. *Acta parasitologica*, 59(1), 132–138. <https://doi.org/10.2478/s11686-014-0222-6>

Maggi, R. G.; Compton, S. M.; Trull, C. L.; Mascarelli, P. E.; Mozayeni, B. R.; Breitschwerdt, E. B. Infecção por espécies de *Mycoplasma* hemotrópico em pacientes com ou sem contato direto com artrópodes ou animais. *Revista de Microbiologia Clínica*, v. 51, n. 10, p. 3237–3241, 2013a.

Maggi, R. G.; Mascarelli, P. E.; Havenga, L. N.; Naidoo, V.; Breitschwerdt, E. B. Co-infecção por *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* em um veterinário. *Parasitologia e Vetores*, v. 6, 2013b. Artigo 103.

Mahmmod Y. (2013). Natural *Babesia bovis* Infection in Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*) and Crossbred Cattle under Field Conditions in Egypt: a Preliminary Study. *Journal of arthropod-borne diseases*, 8(1), 1–9.

Mahmoud, H. Y. A. H., Ali, A. O., & Tanaka, T. (2023). Molecular detection and characterization of *Anaplasma marginale* infecting cattle, buffalo, and camel

populations in southern Egypt. *Frontiers in veterinary science*, 10, 1169323. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1169323>

Meli, M. L., Willi, B., Dreher, U. M., Cattori, V., Knubben-Schweizer, G., Nuss, K., Braun, U., Lutz, H., & Hofmann-Lehmann, R. (2010). Identification, molecular characterization, and occurrence of two bovine hemoplasma species in Swiss cattle and development of real-time TaqMan quantitative PCR assays for diagnosis of bovine hemoplasma infections. *Journal of clinical microbiology*, 48(10), 3563–3568. <https://doi.org/10.1128/JCM.02224-09>

Minervino, A.H.H.; Oliveira, M.; Vecchio, D.; Borghese, A. (2020) *Bubalus bubalis*: um conto. *Frente. Veterinário Sci.*, 7, 570413.

Moaeen-ud-Din, M., & Bilal, G. (2015). Sequence diversity and molecular evolutionary rates between buffalo and cattle. *Journal of animal breeding and genetics = Zeitschrift fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie*, 132(1), 74–84. <https://doi.org/10.1111/jbg.12100>

Motta Giraldo, J. L., Clavijo Hoyos, J. A., Waltero García, I., & Abeledo, M. A. (2014). Prevalencia de anticuerpos a *Brucella abortus*, *Leptospira* sp. y *Neospora caninum* en hatos bovinos y bubalinos en el Departamento de Caquetá, Colombia. *Revista de Salud Animal*, 36(2), 80-89.

Muraro, L. S., Souza, A., Leite, T. N. S., Cândido, S. L., Melo, A. L. T., Toma, H. S., Carvalho, M. B., Dutra, V., Nakazato, L., Cabezas-Cruz, A., Aguiar, D. M. (2021). First Evidence of *Ehrlichia minasensis* Infection in Horses from Brazil. *Pathogens*, 10, 265.

Noaman V. (2014). Comparison of molecular and microscopic technique for detection of *Theileria* spp. in carrier cattle. *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology*, 38(1), 64–67. <https://doi.org/10.1007/s12639-012-0196-y>

Noaman, V., & Shayan, P. (2010). Comparison of Microscopy and PCR-RFLP for detection of *Anaplasma marginale* in carrier cattle. *Iranian journal of microbiology*, 2(2), 89–94.

Oakes, V. J., Yabsley, M. J., Schwartz, D., LeRoith, T., Bissett, C., Broaddus, C., Schlater, J. L., Todd, S. M., Boes, K. M., Brookhart, M., & Lahmers, K. K. (2019). *Theileria orientalis* Ikeda Genotype in Cattle, Virginia, USA. *Emerging infectious diseases*, 25(9), 1653–1659. <https://doi.org/10.3201/eid2509.190088>

Obregón, D., Cabezas-Cruz, A., Armas, Y., Silva, J. B., Fonseca, A. H., André, M. R., Alfonso, P., Oliveira, M. C. S., Machado, R. Z., & Corona-González, B. (2019). High co-infection rates of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* in water buffalo in Western Cuba. *Parasitology research*, 118(3), 955–967. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-06194-6>

Obregón, D., Cabezas-Cruz, A., Armas, Y., Silva, J. B., Fonseca, A. H., André, M. R., Alfonso, P., Oliveira, M. C. S., Machado, R. Z., & Corona-González, B. (2019). High co-infection rates of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* in water buffalo in Western Cuba. *Parasitology research*, 118(3), 955–967. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-06194-6>

Obregón, D., Corona, B. G., de la Fuente, J., Cabezas-Cruz, A., Gonçalves, L. R., Matos, C. A., Armas, Y., Hinojosa, Y., Alfonso, P., Oliveira, M. C. S., & Machado, R. Z. (2018). Molecular evidence of the reservoir competence of water buffalo (*Bubalus bubalis*) for *Anaplasma marginale* in Cuba. *Veterinary parasitology, regional studies and reports*, 13, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.06.007>

Oliveira, A.L. (2005). Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. *Rev Bras Reprod Anim* 29 (2):122-134

Ota, N., Mizuno, D., Kuboki, N., Igarashi, I., Nakamura, Y., Yamashina, H., Hanzaike, T., Fujii, K., Onoe, S., Hata, H., Kondo, S., Matsui, S., Koga, M., Matsumoto, K., Inokuma, H., & Yokoyama, N. (2009). Epidemiological survey of *Theileria orientalis* infection in grazing cattle in the eastern part of Hokkaido, Japan. *The Journal of veterinary medical science*, 71(7), 937–944. <https://doi.org/10.1292/jvms.71.937>

Pagotto, T. C. S. (2006). Biodiversidade do Complexo Aporé-Sucuriú: subsídios à conservação e ao manejo do Cerrado: área prioritária 316 Jauru. UFMS.

Perera, P. K., Gasser, R. B., Firestone, S. M., Anderson, G. A., Malmo, J., Davis, G., Beggs, D. S., & Jabbar, A. (2014). Oriental theileriosis in dairy cows causes a significant milk production loss. *Parasites & vectors*, 7, 73. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-73>

Puentes, J. D., & Riet-Correa, F. (2023). Epidemiological aspects of cattle tick fever in Brazil. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária*, 32(1), e014422. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023007>

QGIS Development Team. (2023). QGIS Geographic Information System (Version 3.32.0). Open Source Geospatial Foundation Project. Retrieved from <https://qgis.org>

Rocha, C.M.B.M. Caracterização da percepção dos produtores de leite do município de Divinópolis/MG sobre a importância do carrapato *Boophilus microplus* e fatores determinantes das formas de combate utilizadas 1995. 205f. Dissertação (Mestrado em Medicina veterinária preventiva e Epidemiologia) - Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1995.

Rodriguez, A. E., Schnittger, L., Tomazic, M. L., & Florin-Christensen, M. (2013). Current and prospective tools for the control of cattle-infecting *Babesia* parasites. *Protozoa: Biology, Classification and Role in Disease*; Castillo, V., Harris, R., Eds, 1-44.

Rodríguez-Vivas, R. I., Pérez-Cogollo, L. C., Rosado-Aguilar, J. A., Ojeda-Chi, M. M., Trinidad-Martinez, I., Miller, R. J., Li, A. Y., de León, A. P., Guerrero, F., & Klafke, G. (2014). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistant to acaricides and ivermectin in cattle farms of Mexico. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 23(2), 113–122. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612014044>

Romero-Salas, D., Mira, A., Mosqueda, J., García-Vázquez, Z., Hidalgo-Ruiz, M., Vela, N. A., de León, A. A., Florin-Christensen, M., & Schnittger, L. (2016). Molecular and serological detection of *Babesia bovis*- and *Babesia bigemina*-infection in bovines and water buffaloes raised jointly in an endemic field. *Veterinary parasitology*, 217, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.12.030>

Sampaio, I.B.M Aspectos importantes da experimentação em Parasitologia (geralmente não considerados pelo pesquisador). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.13, supl. 1, p.178-179, 2004b.

Santos, N. J. R., Brito, D. R. B., Abate, H. L., Paixão, S. F., Soares, E. D. S., Vieira, T. S. W. J., Garcia, J. L., Vieira, R. F. C., & Vidotto, O. (2018). Hemotropic mycoplasmas infection in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from northeastern Brazil. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 56, 27–29. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.12.003>

Schnittger, L., & Florin-Christensen, M. (2018). Introduction into parasitic protozoa. *Parasitic protozoa of farm animals and pets*, 1-10.

Scoles, G. A., Miller, J. A., & Foil, L. D. (2008). Comparison of the efficiency of biological transmission of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) by *Dermacentor andersoni* Stiles (Acari: Ixodidae) with mechanical transmission by the horse fly, *Tabanus fuscicostatus* Hine (Diptera: Muscidae). *Journal of medical entomology*, 45(1), 109–114. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2008\)45\[109:coteob\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2008)45[109:coteob]2.0.co;2)

Sharma, A., Das Singla, L., Tuli, A., Kaur, P., & Bal, M. S. (2015). Detection and assessment of risk factors associated with natural concurrent infection of *Trypanosoma evansi* and *Anaplasma marginale* in dairy animals by duplex PCR in eastern Punjab. *Tropical animal health and production*, 47(1), 251–257. <https://doi.org/10.1007/s11250-014-0710-6>

Shi, H., Duan, L., Liu, F., Hu, Y., Shi, Z., Chen, X., Yang, H., Yan, B., & Yao, L. (2019). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks as reservoir and vector of 'Candidatus Mycoplasma haemobos' in China. *Veterinary parasitology*, 274, 108929. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108929>

Silva, J. B. da ., Lopes, C. T. de A., Souza, M. G. S. de ., Gibson, A. F. B., Vinhote, W. M. de S., Fonseca, A. H. da ., Araújo, F. R. de ., & Barbosa-Neto, J. D.. (2014b). Detecção sorológica e molecular de *Anaplasma marginale* em búfalos na Ilha de Marajó, Pará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(1), 11–14. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000100002>

Silva, J. B., Cabezas-Cruz, A., Fonseca, A. H., Barbosa, J. D., & de la Fuente, J. (2014a). Infection of water buffalo in Rio de Janeiro Brazil with *Anaplasma marginale* strains also reported in cattle. *Veterinary parasitology*, 205(3-4), 730–734. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.09.009>

Silveira, J. A. G., de Oliveira, C. H. S., Silvestre, B. T., Albernaz, T. T., Leite, R. C., Barbosa, J. D., Oliveira, C. M. C., & Ribeiro, M. F. B. (2016). Molecular assays reveal the presence of *Theileria* spp. and *Babesia* spp. in Asian water buffaloes (*Bubalus bubalis*, Linnaeus, 1758) in the Amazon region of Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, 7(5), 1017–1023. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.05.009>

Silveira, J. A., Rabelo, E. M., & Ribeiro, M. F. (2012). Molecular detection of tick-borne pathogens of the family Anaplasmataceae in Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer, 1814) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*, Illiger, 1815). *Transboundary and emerging diseases*, 59(4), 353–360. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01278.x>

- Sivakumar, T., Tattiyapong, M., Fukushi, S., Hayashida, K., Kothalawala, H., Silva, S. S., Vimalakumar, S. C., Kanagaratnam, R., Meewewa, A. S., Suthaharan, K., Puvirajan, T., de Silva, W. K., Igarashi, I., & Yokoyama, N. (2014). Genetic characterization of *Babesia* and *Theileria* parasites in water buffaloes in Sri Lanka. *Veterinary parasitology*, 200(1-2), 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.029>
- Song, Q., Wang, L., Fang, R., Khan, M. K., Zhou, Y., & Zhao, J. (2013). Detection of *Mycoplasma wenyonii* in cattle and transmission vectors by the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Tropical animal health and production*, 45(1), 247–250. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0197-y>
- Souza, R. S., Resende, M. F. S., Ferreira, L. C. A., Ferraz, R. S., Araújo, M. V. V., Bastos, C. V., Silveira, J. A. G., Moreira, T. F., Meneses, R. M., Carvalho, A. U., Leme, F. O. P., & Facury Filho, E. J. (2021). Monitoring bovine tick fever on a dairy farm: An economic proposal for rational use of medications. *Journal of dairy science*, 104(5), 5643–5651. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19504>
- Su, Q. L., Song, H. Q., Lin, R. Q., Yuan, Z. G., Yang, J. F., Zhao, G. H., Huang, W. Y., & Zhu, X. Q. (2010). The detection of "*Candidatus Mycoplasma haemobos*" in cattle and buffalo in China. *Tropical animal health and production*, 42(8), 1805–1808. <https://doi.org/10.1007/s11250-010-9640-0>
- Tatsukawa, F., Nohara, R., Taniguchi, T., Goto, A., Misawa, N., & Katamoto, H. (2021). Detection of *Mycoplasma wenyonii* and "*Candidatus Mycoplasma haemobos*" from Japanese Black breeding cows in Kyushu and Okinawa region, southern part of Japan. *The Journal of veterinary medical science*, 83(1), 9–16. <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0505>
- Terkawi, M. A., Huyen, N. X., Shinuo, C., Inpankaew, T., Maklon, K., Aboulaila, M., Ueno, A., Goo, Y. K., Yokoyama, N., Jittapalapong, S., Xuan, X., & Igarashi, I. (2011). Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the northeast region of Thailand. *Veterinary parasitology*, 178(3-4), 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.01.041>
- Thongmeesee, K., Chonglomkrod, B., Srisakdi, C., Saributr, M., Suksai, P., Kamkong, P., & Tiawsirisup, S. (2022). Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and its closely related hemotropic *Mycoplasma* sp. in blood-sucking flies from a buffalo farm in Chachoengsao province, Thailand. *Acta tropica*, 235, 106647. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106647>
- Walker, A. R. (2003). *Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species* (Vol. 74). Edinburgh: Bioscience Reports.
- Wantzen, K. M., Couto, E. G., Mund, E. E., Amorim, R. S., Siqueira, A., Tielbörger, K., & Seifan, M. (2012). Soil carbon stocks in stream-valley-ecosystems in the Brazilian Cerrado agroscape. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 151, 70-79.
- Watts, J. G., Playford, M. C., & Hickey, K. L. (2016). *Theileria orientalis*: a review. *New Zealand veterinary journal*, 64(1), 3–9. <https://doi.org/10.1080/00480169.2015.1064792>

Werneck, F. L. (1936). Contribuição ao conhecimento dos Mallophagos encontrados nos mamíferos sul-americanos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 31, 391-589. DOI: 10.1590/S0074-02761936000300001.

Yao, B., Zhao, J., Ma, L., & Liu, Z. (1997). Studies on the pathogenicity of *Babesia bovis* in water buffaloes after cryopreservation and resuscitation. *Tropical Animal Health and Production*, 29, 40S-42S.

Ybañez, A. P., Ybañez, R. H. D., Armonia, R. K. M., Chico, J. K. E., Ferraren, K. J. V., Tapdasan, E. P., Salces, C. B., Maurillo, B. C. A., Galon, E. M. S., Macalanda, A. M. C., Moumouni, P. F. A., & Xuan, X. (2019). First molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and the ectoparasite biodiversity in dairy water buffalo and cattle in Bohol, Philippines. *Parasitology international*, 70, 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.02.004>

Yousef, S. G., Sobhy, N. M., Gouda, H., & Emam, M. H. (2024). Sero epidemiological study on bovine babesiosis in cattle and buffaloes in Sharkia Governorate, Egypt. *Open veterinary journal*, 14(7), 1577–1584. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2024.v14.i7.7>

Zhyldyz, A., Sivakumar, T., Igarashi, I., Gunasekara, E., Kothalawala, H., Silva, S. S. P., & Yokoyama, N. (2019). Epidemiological survey of *Anaplasma marginale* in cattle and buffalo in Sri Lanka. *The Journal of veterinary medical science*, 81(11), 1601–1605. <https://doi.org/10.1292/jvms.19-0242>

6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os resultados obtidos nesse estudo demonstram a interação entre *R. microplus* e hemopatógenos em bezerros bubalinos, destacando a importância do controle integrado destes vetores na sanidade dos rebanhos. Embora os búfalos possam atuar como hospedeiros desse carrapato, a dinâmica da infestação pode ser influenciada por fatores fisiológicos e imunitários que reduzem a sua eficiência reprodutiva do carrapato. Entretanto, outros fatores de risco como vegetação, temperatura, umidade e animais jovens podem potencializar a proliferação desses ixodídeo, fazendo com que eles se tornem uma grande ameaça nas fazendas criadoras de búfalos, principalmente aquelas que possuem bovinos. Os búfalos mesmo não apresentando sinais clínicos agudos quando infectados com alguns hemopatógenos, podem representar uma fonte de infecção há mais, além dos bovinos, para carrapatos. O controle inadequado dos vetores, especialmente em animais jovens, pode comprometer a sanidade dos búfalos e favorecer a persistência dessas infecções nos sistemas de produção.

Apesar da aparente resistência relativa dos búfalos à infestação por *R. microplus*, a capacidade do carrapato de completar seu ciclo nesses animais ressalta seu potencial como hospedeiros alternativos e, conseqüentemente, como fontes de infecção de patógenos. A alta prevalência de *A. marginale* e *Babesia* spp., além da presença de outros hemopatógenos, indica que os bezerros bubalinos são altamente expostos a esses agentes, especialmente em regiões onde há contato frequente com bovinos, hospedeiros preferenciais do carrapato.

A crença comum de que búfalos não apresentam problemas com carrapatos e seus patógenos associados é refutada por este estudo, que demonstra a realidade e frequência da infestação por carrapatos e da presença de hemopatógenos em bezerros bubalinos, especialmente na região investigada. Apesar das limitações, como a impossibilidade de alcançar todas as propriedades da microrregião escolhida, assim como algumas propriedades ter um *n* amostral menor do que o esperado, o estudo possui relevância significativa, pois aborda um problema frequentemente negligenciado na criação de búfalos. Portanto, os achados ressaltam a importância de um controle rigoroso de ectoparasitos, sobretudo em sistemas de criação conjunta com bovinos, e a implementação de programas de monitoramento sanitário que considerem tanto a infestação por carrapatos quanto a presença de hemoparasitos.

Ressaltando que mais estudos na área são necessários para entender melhor o comportamento desses parasitos com essa espécie de hospedeiro, e assim formular protocolos específicos e eficazes de tratamento.

7. CONCLUSÕES

- *R. microplus* é capaz de completar seu ciclo de vida em bezerro bubalino por três gerações;
- A oviposição de fêmeas de *R. microplus* diminui em gerações subsequentes na infestação em bezerro bubalino;
- *R. microplus* parasita bezerros bubalinos de 0 a 12 meses de idade na microrregião de Bom Despacho, MG;
- *H. tuberculatus* parasita bezerros bubalinos de 0 a 12 meses de idade na microrregião de Bom Despacho, MG;
- Hemopatógenos dos gêneros *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. (monóticos), *Mycoplasma* sp. (hemotrópico), *Babesia* spp., parasitam bezerros bubalinos em propriedades da microrregião de Bom Despacho, MG;
- Não foi detectado o DNA de protozoário *Theileria* spp. nos bezerros bubalinos de propriedades da microrregião de Bom Despacho, MG;
- Nos rebanhos de bezerros bubalinos da microrregião de Bom Despacho (MG), a idade dos animais, o uso da abamectina e a presença de machos jovens são fatores de risco para soropositividade de *A. marginale*, enquanto infestações de carrapato na seca demonstraram um efeito protetor.
- Nos rebanhos de bezerros bubalinos da microrregião de Bom Despacho (MG), a alta infestação de carrapatos, o uso da abamectina, a presença de bovinos e infestações por carrapatos em época de chuva representam fatores de risco para soropositividade de *B. bovis*, ao passo que a idade jovem e o uso da doramectina se mostraram protetores.
- Nos rebanhos de bezerros bubalinos da microrregião de Bom Despacho (MG), a alta infestação de carrapatos, tratamentos injetáveis, intervalos de tratamento

prolongados e a idade dos animais foram identificados como fatores de risco para *B. bigemina*, enquanto o uso da doramectina e os sistemas de criação intensivo e semiextensivo demonstraram um efeito protetor.

REFERÊNCIAS:

ABCB – Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (2021). Disponível em: <https://bufalo.com.br/o-bufalo/>. Acesso em 01 de janeiro de 2025.

Ackerman, S., Clare, F. B., McGill, T. W., & Sonenshine, D. E. (1981). Passage of host serum components, including antibody, across the digestive tract of *Dermacentor variabilis* (Say). *The Journal of parasitology*, 67(5), 737–740.

Adler, S.; Ellenbogen, V. (1934) Uma nota sobre dois novos parasitas do sangue do gado, *Eperythrozoon* e *Bartonella*. *J. Comp. Pathol. Therap.* 1934, 47, 219–221.

Aguiar, D. M., Ziliani, T. F., Zhang, X., Melo, A. L., Braga, I. A., Witter, R., Freitas, L. C., Rondelli, A. L., Luis, M. A., Sorte, E. C., Jaune, F. W., Santarém, V. A., Horta, M. C., Pescador, C. A., Colodel, E. M., Soares, H. S., Pacheco, R. C., Onuma, S. S., Labruna, M. B., & McBride, J. W. (2014). A novel *Ehrlichia* genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. *Ticks and tick-borne diseases*, 5(5), 537–544. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.03.010>

Agwunobi, D. O., Yu, Z., & Liu, J. (2021). A retrospective review on ixodid tick resistance against synthetic acaricides: implications and perspectives for future resistance prevention and mitigation. *Pesticide biochemistry and physiology*, 173, 104776. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104776>

Aitken, I. D., & Longbottom, D. (2007). Chlamydial abortion. *Diseases of sheep*, 4(16), 105–12.

Aktas, M., Dumanli, N., Cetinkaya, B., & Cakmak, A. (2002). Field evaluation of PCR in detecting *Theileria annulata* infection in cattle in eastern Turkey. *The Veterinary record*, 150(17), 548–549. <https://doi.org/10.1136/vr.150.17.548>.

Alberton, L. R., Orlandini, C. F., Zampieri, T. M., Nakamura, A. Y., Gonçalves, D. D., Piau Júnior, R., Zaniolo, M. M., Cardim, S. T., Vidotto, O., & Garcia, J. L.. (2015). Eficácia do dipropionato de imidocarb, da enrofloxacin e do cloridrato de oxitetraciclina no tratamento de bovinos naturalmente infectados por *Anaplasma marginale*. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia*, 67(4), 1056–1062. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-7999>

Ali, A., Zeb, I., Alouffi, A., Zahid, H., Almutairi, M. M., Ayed Alshammari, F., Alrouji, M., Termignoni, C., Vaz, I. D. S., Jr, & Tanaka, T. (2022). Host Immune Responses to Salivary Components - A Critical Facet of Tick-Host Interactions. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 809052. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.809052>

Almeida, M. B. de ., Tortelli, F. P., Riet-Correa, B., Ferreira, J. L. M., Soares, M. P., Farias, N. A. R., Riet-Correa, F., & Schild, A. L. (2006). Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-2005. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 26(4), 237–242. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2006000400008>

Alonso, M., Arellano-Sota, C., Cereser, V. H., Cordoves, C. O., Guglielmone, A. A., Kessler, R., Mangold, A. J., Nari, A., Patarroyo, J. H., & Solari, M. A. (1992). Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Latin America and the Caribbean. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 11(3), 713–733. <https://doi.org/10.20506/rst.11.3.623>

Alvarado-Rybak, M., Solano-Gallego, L., & Millán, J. (2016). A review of piroplasmid infections in wild carnivores worldwide: importance for domestic animal health and wildlife conservation. *Parasites & vectors*, 9(1), 538. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1808-7>

Amira, A. H., Ahmed, L., Ahmed, J., Nijhof, A., & Clausen, P. H. (2018). Epidemiological study on tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in the Egyptian Oases with special reference to the molecular characterization of *Theileria* spp. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(6), 1489-1493.

Amorim, L. S., Wenceslau, A. A., Carvalho, F. S., Carneiro, P. L. S., Albuquerque, G. R. (2014). Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23, 328-336.

Andrade, L. S., Souza, R. S., Araujo, A. C., Silva, S. O., Melo, M. N., Melo, F. G., Ribeiro, G. H. S., Sousa, F. G., Bastos, C. V., Moreira, T. F., Meneses, R. M., Carvalho, A. U., Facury-Filho, E. J., & Silveira, J. A. G.(2024). Hemopathogens in naturally infected bovine fetuses in Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 15(5), 10235.

André, M. R., Herrera, H. M., Fernandes, S.deJ., de Sousa, K. C., Gonçalves, L. R., Domingos, I. H., de Macedo, G. C., & Machado, R. Z. (2015). Tick-borne agents in domesticated and stray cats from the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, midwestern Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, 6(6), 779–786. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.07.004>

Araoz, V., Micheloud, J. F., Gaido, A. B., Salatin, A. O., & Aguirre, D. H. (2017). Brotes de babesiosis y anaplasmosis bovina diagnosticados en el INTA Salta, Argentina: período 2006-2016. *Revista FAVE. Sección Ciencias veterinarias*, 16(2), 101-105.

Araujo, A. de C. (2022). Detecção e caracterização molecular de *Theileria orientalis* em búfalos (*Bubalus bubalis*) do Pará, Brasil [Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Parasitologia].

Ashuma, Sharma, A., Singla, L. D., Kaur, P., Bal, M. S., Batth, B. K., & Juyal, P. D. (2013). Prevalence and haemato-biochemical profile of *Anaplasma marginale* infection in dairy animals of Punjab (India). *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 6(2), 139–144. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60010-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60010-3)

Ayadi, O., Rjeibi, M. R., Elfegoun, M. B., & Gharbi, M. (2016). Prevalence and risk factors of tropical theileriosis, and sequencing of *Theileria annulata*, the causative pathogen, in Setif region (Algeria) before and after tick season. *Rev Elev Med Vet Pays Trop*, 69(4), 161-166.

Ayling, R. D., Bisgaard-Frantzen, S., Adler, A., Blowey, R. W., Barlow, A. M., Millar, M. F., & van der Burgt, G. M. (2012). Detection of 'Candidatus Mycoplasma haemobos', *Mycoplasma wenyonii* and *Anaplasma phagocytophilum* from cattle in England. *The Veterinary record*, 170(21), 543. <https://doi.org/10.1136/vr.100636>

Barré, N., & Uilenberg, G. (2010). Spread of parasites transported with their hosts: case study of two species of cattle tick. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 29(1), 149–147.

Bastianetto, E., V.M. Barbosa e R.C. Leite. (2002). Avaliação das diferentes bases de avermectina no controle de *Haematopinus tuberculatus*: 357–359. Em Anais do 1º Simpósio de Búfalos das Américas.

Batista, H. R., Sarturi, C., Stelmachtchuk, F. N., Oliveira, D. R., Morini, A. C., Gennari, S. M., Marcili, A., Bastos, F. A. N., Barata, L. E. S., Minervino, A. H. H. (2018). Prevalence and risk factors associated with ectoparasite infestation of buffaloes in an Amazonian ecosystem. *Parasites & vectors*, 11, 1-9.

Bernardes, O. (2007) Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. *Rev Bras. Reprod Anim* 31(3): 293-298

Bernardes, W (1997). Bubalinocultura leiteira no Brasil: tendências, parcerias e fomento. Instituto de Pesquisas Agrárias e Ambientais de Ingaí. Acesso: <http://www.ingai.agr.br/x/parceria.htm>

Biegelmeyer, P., Nizoli, L. Q., da Silva, S. S., dos Santos, T. R., Dionello, N. J., Gúlias-Gomes, C. C., & Cardoso, F. F. (2015). Bovine genetic resistance effects on biological traits of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary parasitology*, 208(3-4), 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.01.010>

Bishop, R. P., Hemmink, J. D., Morrison, W. I., Weir, W., Toye, P. G., Sitt, T., Spooner, P. R., Musoke, A. J., Skilton, R. A., & Odongo, D. O. (2015). The African buffalo parasite *Theileria*. sp. (buffalo) can infect and immortalize cattle leukocytes and encodes divergent orthologues of *Theileria parva* antigen genes. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife*, 4(3), 333–342. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.08.006>

Bock, R., Jackson, L., De Vos, A., & Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitology*, 129(S1), S247-S269.

Borchers, A. T., Keen, C. L., Huntley, A. C., & Gershwin, M. E. (2015). Lyme disease: a rigorous review of diagnostic criteria and treatment. *Journal of autoimmunity*, 57, 82–115. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.09.004>

Borges, L. M., Oliveira, P. R., & Ribeiro, M. F. (2000). Seasonal dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brazil. *Veterinary parasitology*, 89(3), 165–171. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(00\)00204-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(00)00204-1)

- Böse, R., Jorgensen, W. K., Dalglish, R. J., Friedhoff, K. T., & de Vos, A. J. (1995). Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Veterinary parasitology*, 57(1-3), 61–74. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)03111-9](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)03111-9)
- Brito, L. G., Rocha, R. B., Barbieri, F. da S., Ribeiro, E. S., Vendrami, F. B., Souza, G. C., Giglioti, R., Regitano, L. C., Falcowski, T. O., Tizioto, P. C., & Oliveira, M. C. (2013). *Babesia bovis* infection in cattle in the southwestern Brazilian Amazon. *Ticks and tick-borne diseases*, 4(1-2), 78–82. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.08.001>
- Cabezas-Cruz, A., Zweggarth, E., Vancová, M., Broniszewska, M., Grubhoffer, L., Passos, L. M. F., Ribeiro, M. F. B., Alberdi, P., & de la Fuente, J. (2016). *Ehrlichia minasensis* sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(3), 1426–1430. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000895>
- Calchi, A. C., Duarte, J. M. B., Castro-Santiago, A. C., Bassini-Silva, R., Barros-Battesti, D. M., Machado, R. Z., & André, M. R. (2024). Genetic diversity of *Theileria* spp. in deer (Artiodactyla: Cervidae) from Brazil. *Parasitology research*, 123(11), 384. <https://doi.org/10.1007/s00436-024-08398-5>
- Caravedo Martinez, M. A., Ramírez-Hernández, A., & Blanton, L. S. (2021). Manifestations and Management of Flea-Borne Rickettsioses. *Research and reports in tropical medicine*, 12, 1–14. <https://doi.org/10.2147/RRTM.S274724>
- Carvalho, W. A., Domingues, R., de Azevedo Prata, M. C., da Silva, M. V., de Oliveira, G. C., Guimarães, S. E., & Machado, M. A. (2014). Microarray analysis of tick-infested skin in resistant and susceptible cattle confirms the role of inflammatory pathways in immune activation and larval rejection. *Veterinary parasitology*, 205(1-2), 307–317. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.07.018>
- Carvalho, W. A., Franzin, A. M., Abatepaulo, A. R., de Oliveira, C. J., Moré, D. D., da Silva, J. S., Ferreira, B. R., & de Miranda Santos, I. K. (2010). Modulation of cutaneous inflammation induced by ticks in contrasting phenotypes of infestation in bovines. *Veterinary parasitology*, 167(2-4), 260–273. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.028>
- Chae, J. S., Allsopp, B. A., Waghela, S. D., Park, J. H., Kakuda, T., Sugimoto, C., Allsopp, M. T., Wagner, G. G., & Holman, P. J. (1999). A study of the systematics of *Theileria* spp. based upon small-subunit ribosomal RNA gene sequences. *Parasitology research*, 85(11), 877–883. <https://doi.org/10.1007/s004360050651>
- Chilton, N. B., Dergousoff, S. J., & Lysyk, T. J. (2023). Detection of *Ehrlichia minasensis* in a female winter tick (*Dermacentor albipictus*) feeding on a moose (*Alces alces*) in western Canada. *Journal of wildlife diseases*, 59(4), 811–814. <https://doi.org/10.7589/JWD-D-23-00033>
- Cicculi, V., Masse, S., Capai, L., de Lamballerie, X., Charrel, R., & Falchi, A. (2019). First detection of *Ehrlichia minasensis* in *Hyalomma marginatum* ticks collected from cattle in Corsica, France. *Veterinary medicine and science*, 5(2), 243–248. <https://doi.org/10.1002/vms3.140>

Combaz-Söhnchen, N., & Kuhn, A. (2017). A Systematic Review of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* in Urogynaecology. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 77(12), 1299–1303. <https://doi.org/10.1055/s-0043-119687>

Constantinoiu, C. C., Jackson, L. A., Jorgensen, W. K., Lew-Tabor, A. E., Piper, E. K., Mayer, D. G., Venus, B., & Jonsson, N. N. (2010). Local immune response against larvae of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. *International journal for parasitology*, 40(7), 865–875. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.01.004>

Corrêa, F. do N. (2011). Estudo Epidemiológico de *Borrelia burgdorferi*, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em Búfalos (*Bubalus bubalis*) do Estado do Rio de Janeiro.

Costa, V. M., Ribeiro, M. F., Duarte, A. L., Mangueira, J. M., Pessoa, A. F., Azevedo, S. S., Barros, A. T., Riet-Correa, F., & Labruna, M. B. (2013). Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. *Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 22(2), 207–213. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612013005000022>

Corrêa, F. do N., da Cunha, N. C., Rangel, C. P., & da Fonseca, A. H. (2012). Ticks on buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 21(3), 313–314. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612012000300026>

Costa, F. B., da Costa, A. P., Moraes-Filho, J., Martins, T. F., Soares, H. S., Ramirez, D. G., Dias, R. A., & Labruna, M. B. (2017). *Rickettsia amblyommatis* infecting ticks and exposure of domestic dogs to *Rickettsia* spp. in an Amazon-Cerrado transition region of northeastern Brazil. *PloS one*, 12(6), e0179163. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179163>

Costa, V. M. de M., Ribeiro, M. F. B., Duarte, A. L. L., Mangueira, J. M., Pessoa, A. F. A., Azevedo, S. S., Barros, A. T. M. de ., Riet-Correa, F., & Labruna, M. B.. (2013). Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária*, 22(2), 207–213. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612013005000022>

Da Silva, A. S., Lopes, L. S., Diaz, J. D., Tonin, A. A., Stefani, L. M., & Araújo, D. N. (2013a). Lice outbreak in buffaloes: evidence of *Anaplasma marginale* transmission by sucking lice *Haematopinus tuberculatus*. *The Journal of parasitology*, 99(3), 546–547. <https://doi.org/10.1645/GE-3260.1>

Da Silva, J. B., & Da Fonseca, A. H. (2013). Analysis of the risk factors related to the immune humoral anti-*Anaplasma marginale* in dairy cattle. *Semina: Ciencias Agrarias*, 34(2), 777-784.

Da Silva, J. B., de Santana Castro, G. N., & Fonseca, A. H. (2014a). Longitudinal study of risk factors for anaplasmosis and transplacental transmission in herd cattle. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(4), 2491-2500.

da Silva, J. B., Rangel, C. P., de Azevedo Baêta, B., & da Fonseca, A. H. (2014b). Analysis of the risk factors relating to cows' resistance to *Rhipicephalus microplus* ticks during the peripartum. *Experimental & applied acarology*, 63(4), 551–557. <https://doi.org/10.1007/s10493-014-9793-z>

D'Andrea, L. A. Z., Sartor, I. F., Madruga, C. R., Freitas, S. B. Z., Kroll, L. B., & Kronka, S. N.. (2006). Condição imunológica de bovinos das raças Holandesa e Nelore frente a *Babesia bovis* e *B. bigemina* em duas regiões do Estado de São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 26(2), 74–78. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2006000200003>

de Castro J. J. (1997). Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. *Veterinary parasitology*, 71(2-3), 77–97. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(97\)00033-2](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(97)00033-2)

De Castro, J. J., Cunningham, M. P., Dolan, T. T., Dransfield, R. D., Newson, R. M., & Young, A. S. (1985). Effects on cattle of artificial infestations with the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Parasitology*, 90 (Pt 1), 21–33. <https://doi.org/10.1017/s0031182000048988>

de Mello, V. V. C., de Souza Ramos, I. A., Herrera, H. M., Mendes, N. S., Calchi, A. C., Campos, J. B. V., Macedo, G. C., Alves, J. V. A., Machado, R. Z., & André, M. R. (2019). Occurrence and genetic diversity of hemoplasmas in beef cattle from the Brazilian Pantanal, an endemic area for bovine trypanosomiasis in South America. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 66, 101337. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101337>.

De Meneghi, D., Stachurski, F., & Adakal, H. (2016). Experiences in Tick Control by Acaricide in the Traditional Cattle Sector in Zambia and Burkina Faso: Possible Environmental and Public Health Implications. *Frontiers in public health*, 4, 239. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00239>

De Souza Ferreira, L., & Ruegg, P. L. (2024). Graduate Student Literature Review: Hemotropic mycoplasmas in cattle. *Journal of dairy science*, 107(5), 3185–3196. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24120>

Desquesnes, M., Holzmüller, P., Lai, D. H., Dargantes, A., Lun, Z. R., & Jittaplapong, S. (2013). *Trypanosoma evansi* and surra: a review and perspectives on origin, history, distribution, taxonomy, morphology, hosts, and pathogenic effects. *BioMed research international*, 2013, 194176. <https://doi.org/10.1155/2013/194176>

Domínguez Aguilar, G., Romero Salas, D., Martínez Herrera, D. I., & García Vázquez, Z. (2013). Los búfalos de agua y las enfermedades infecciosas. *Revista La Ciencia y el Hombre*, 25(2).

Dreher, U. M., de la Fuente, J., Hofmann-Lehmann, R., Meli, M. L., Pusterla, N., Kocan, K. M., Woldehiwet, Z., Braun, U., Regula, G., Staerk, K. D., & Lutz, H. (2005). Serologic cross-reactivity between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum*. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 12(10), 1177–1183. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.10.1177-1183.2005>

Dumler, J. S., Barbet, A. F., Bekker, C. P., Dasch, G. A., Palmer, G. H., Ray, S. C., Rikihisa, Y., & Rurangirwa, F. R. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(Pt 6), 2145–2165. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145>

Durden, L. A., & Hinkle, N. C. (2019). Fleas (siphonaptera). In *Medical and veterinary entomology* (pp. 145-169). Academic press.

Durden, L. A., & Musser, G. G. (1994). The sucking lice (Insecta, Anoplura) of the world: a taxonomic checklist with records of mammalian hosts and geographical distributions.

Elston, D. M., & Do, H. (2010). What's eating you? Cat flea (*Ctenocephalides felis*), Part 1: Clinical features and role as a disease vector. *Cutis*, 85(5), 231-236.

Engracia Filho, J. R., Araújo, C. D., Pinto, G. N., Mendes, Y. H., & Bechara, G. H. (2017). Cellular response in the tick feeding site in crossbred cattle artificially infested by *Rhipicephalus microplus*. *Experimental & applied acarology*, 72(2), 171–178. <https://doi.org/10.1007/s10493-017-0143-9>

Erol, U., Sahin, O. F., & Altay, K. (2023). Molecular prevalence of bovine hemoplasmosis in Turkey with first detection of *Mycoplasma wenyonii* and *Candidatus Mycoplasma haemobos* in cattle and water buffalo. *Veterinary research communications*, 47(1), 207–215. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09943-2>

Escobar, L. O. (2010). Enfermedades de los búfalos. Asociación Colombiana de Criadores de Búfalos. In *Simposio anual*.

Estrada-Peña, A., & de la Fuente, J. (2014). The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral research*, 108, 104–128. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.05.016>

Facury-Filho, E. J., Carvalho, A. Ú. D., Ferreira, P. M., Moura, M. F., Apolinário, B. C., Santos, L. D. P. H., & Ribeiro, M. F. B. (2012). Effectiveness of enrofloxacin for the treatment of experimentally-induced bovine anaplasmosis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 21, 32-36.

Feldman-Muhsam B. (1964). Laboratory colonies of *Rhipicephalus*. *Bulletin of the World Health Organization*, 31(4), 587–589.

Ferreira Neto, J. V., Castro, M. C. M., Santana, A. L. M., Valença, G. M., Aguirre, A. A. R., Maitra, A., & Pessoa, F. A. C. (2024). First record of *Haematopinus tuberculatus* (Burmeister, 1839) (Psocodea: Anoplura: Haematopinidae) parasitizing buffalo (*Bubalus bubalis*) in the state of Amazonas, Brazil. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 33(4), e013824. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612024070>

Flores-García, D. L., Aguilar-Díaz, H., Amaro-Estrada, I., Martínez-Ocampo, F., & Quiroz-Castañeda, R. E. (2022). An Update of Bovine Hemoplasmas Based on Phylogenetic and Genomics Analysis. *Microorganisms*, 10(10), 1916. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101916>.

Foil, L. D. (1989). Tabanids as vectors of disease agents. *Parasitology today*, 5(3), 88-96.

Folly, M. M., Madruga, R., Emmott, V. P., da Costa Pereira, M. A. V., & Vita, G. F. (2009). Ocorrência de *Babesia* sp. em bezerros mestiços, por meio de testes sorológicos, em Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 10(1).

Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. Expert consultation on the sustainable management of parasites in livestock challenged by the global emergence of resistance – Part 1: Current status and management of acaricide resistance in livestock ticks. Rome: FAO; 2022. (FAO Animal Production and Health, no. 17).

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2022). FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/>

Franzin, A. M., Maruyama, S. R., Garcia, G. R., Oliveira, R. P., Ribeiro, J. M., Bishop, R., Maia, A. A., Moré, D. D., Ferreira, B. R., & Santos, I. K. (2017). Immune and biochemical responses in skin differ between bovine hosts genetically susceptible and resistant to the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasites & vectors*, 10(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1945-z>

Franzolin, R., Dell'Porto, A., & Lacaz-Ruiz, R. (1989). Anaplamosis and babesiosis: a clinical case in buffalo (*Bubalus bubalis*) calf in Brazil. *Buffalo Bulletin*, 8(9), 54-68.

Fred H. L. (2007). Maxwell Myer Wintrobe: nova história e uma nova apreciação. *Jornal do Texas Heart Institute*, 34(3), 328–335.

Frisch J. E. (1999). Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. *International journal for parasitology*, 29(1), 57–75. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(98\)00177-5](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(98)00177-5)

Gaido, A. B., Viñabal, A. E., Aguirre, D. H., Echaide, S. D., & Guglielmone, A. A. (1995). Transmission of *Anaplasma marginale* by the three-host tick *Amblyomma neumanni* under laboratory conditions.

Garcia Pérez, H. A., Rodrigues, C. M. F., Pivat, I. H. V., Fuzato, A. C. R., Camargo, E. P., Minervino, A. H. H., & Teixeira, M. M. G. (2020). High *Trypanosoma vivax* infection rates in water buffalo and cattle in the Brazilian Lower Amazon. *Parasitology international*, 79, 102162. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102162>

Gasparin, G., Miyata, M., Coutinho, L. L., Martinez, M. L., Teodoro, R. L., Furlong, J., Machado, M. A., Silva, M. V., Sonstegard, T. S., & Regitano, L. C. (2007). Mapping of quantitative trait loci controlling tick [*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*] resistance on bovine chromosomes 5, 7 and 14. *Animal genetics*, 38(5), 453–459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2007.01634.x>

Gianizella, S. L., Martins, T. F., Onofrio, V. C., Aguiar, N. O., Gravena, W., do Nascimento, C. A. R., Neto, L. C., Faria, D. L., Lima, N. A. S., Solorio, M. R., Maranhão, L., Lima, I. J., Cobra, I. V. D., Santos, T., Lopes, G. P., Ramalho, E. E., Luz, H. R., & Labruna, M. B. (2018). Ticks (Acari: Ixodidae) of the state of Amazonas, Brazil. *Experimental & applied acarology*, 74(2), 177–183. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0221-7>

Giroto, A., Zangirólamo, A. F., Bogado, A. L. G., Souza, A. S. L., Silva, G. C. F. da ., Garcia, J. L., Vilas Boas, L. A., Biondo, A. W., & Vidotto, O. (2012). Molecular detection and occurrence of '*Candidatus* Mycoplasma haemobos' in dairy cattle of Southern Brazil. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária*, 21(3), 342–344. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000300034>

Githaka, N. W., Kanduma, E. G., Wieland, B., Darghouth, M. A., & Bishop, R. P. (2022). Acaricide resistance in livestock ticks infesting cattle in Africa: Current status and potential mitigation strategies. *Current research in parasitology & vector-borne diseases*, 2, 100090. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2022.100090>

Gomes RA. (2007). Resposta Imune-humoral de búfalos (*Bubalus bubalis*) infectados naturalmente por *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*. [Dissertação]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista.

Gomes, R. A., Machado, R. Z., Starke-Buzetti, W. A., & Bonesso, M. A. (2008). Resposta imune-humoral de búfalos (*Bubalus bubalus*) contra *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910). *Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 17(2), 73–80. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612008000200003>

Gondard, M., Cabezas-Cruz, A., Charles, R. A., Vayssier-Taussat, M., Albina, E., & Moutailler, S. (2017). Ticks and Tick-Borne Pathogens of the Caribbean: Current Understanding and Future Directions for More Comprehensive Surveillance. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 490. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00490>

Gregson, J. D. (1941). Host immunity to ticks (Acarina). *Journal of the Entomological Society of British Columbia*, 38, 12-13.

Grisi, L., Leite, R. C., Martins, J. R., Barros, A. T., Andreotti, R., Cançado, P. H., León, A. A., Pereira, J. B., & Villela, H. S. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Brazilian journal of veterinary parasitology*, 23(2), 150–156. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612014042>

Guglielmone, A. A. (1995) Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Vet Parasitol* 57:109–119

Guglielmone, A. A., Robbins, R. G., Apanaskevich, D. A., Petney, T. N., Estrada-Peña, A., & Horak, I. G. (2014). The hard ticks of the world. *Springer, Dordrecht*, 10, 978-994.

Guyot, H., Ramery, E., O'Grady, L., Sandersen, C., & Rollin, F. (2011). Emergence of bovine ehrlichiosis in Belgian cattle herds. *Ticks and tick-borne diseases*, 2(2), 116-118.

He, L., Feng, H. H., Zhang, W. J., Zhang, Q. L., Fang, R., Wang, L. X., Tu, P., Zhou, Y. Q., Zhao, J. L., & Oosthuizen, M. C. (2012). Occurrence of *Theileria* and *Babesia* species in water buffalo (*Bubalus bubalis*, Linnaeus, 1758) in the Hubei province, South China. *Veterinary parasitology*, 186(3-4), 490–496. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.021>

Hernández-Velasco, A., Sánchez-Montes, S., Romero-Salas, D., Cruz-Romero, A., Jiménez-Hernández, J. A., Becker, I., Aguilar-Domínguez, M., & de León, A. P. (2020). First record of natural infection with *Anaplasma marginale* in sucking lice infesting the water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Mexico. *Parasitology research*, 119(11), 3853–3856. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06772-7>

Hoelzle, K., Winkler, M., Kramer, M. M., Wittenbrink, M. M., Dieckmann, S. M., & Hoelzle, L. E. (2011). Detection of *Candidatus Mycoplasma haemobos* in cattle with anaemia. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 187(3), 408–410. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.01.016>

Hofmann-Lehmann, R., Meli, M. L., Dreher, U. M., Gönczi, E., Deplazes, P., Braun, U., Engels, M., Schüpbach, J., Jörger, K., Thoma, R., Griot, C., Stärk, K. D., Willi, B., Schmidt, J., Kocan, K. M., & Lutz, H. (2004). Concurrent infections with vector-borne pathogens associated with fatal hemolytic anemia in a cattle herd in Switzerland. *Journal of clinical microbiology*, 42(8), 3775–3780. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3775-3780.2004>

Hoogstraal, H. (1985). Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Advances in parasitology*, 24, 135-238.

Hornok, S., Micsutka, A., Meli, M. L., Lutz, H., & Hofmann-Lehmann, R. (2011). Molecular investigation of transplacental and vector-borne transmission of bovine haemoplasmas. *Veterinary microbiology*, 152(3-4), 411–414. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.04.031>

Hung Ch, A. L. (1986). Chemotherapeutic efficacy of imidocarb dipropionate on experimental *Eperythrozoon ovis* infection in sheep. *Tropical animal health and production*, 18, 97-102.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IBGE (2023). Rebanho Bubalino no Brasil. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bubalinos/br>. Acesso em: 9 jan. 2025.

Iweriebor, B. C., Mmbaga, E. J., Adegborioye, A., Igwaran, A., Obi, L. C., & Okoh, A. I. (2017). Genetic profiling for *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ticks collected in the Eastern Cape Province of South Africa. *BMC microbiology*, 17(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-0955-0>

Jacob, S. S., Sengupta, P. P., Paramanandham, K., Suresh, K. P., Chamuah, J. K., Rudramurthy, G. R., & Roy, P. (2020). Bovine babesiosis: An insight into the global perspective on the disease distribution by systematic review and meta-analysis. *Veterinary parasitology*, 283, 109136.

Jaimes-Dueñez, J., Triana-Chávez, O., Holguín-Rocha, A., Tobon-Castaño, A., & Mejía-Jaramillo, A. M. (2018). Molecular surveillance and phylogenetic traits of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle (*Bos taurus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Colombia. *Parasites & vectors*, 11(1), 510. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3091-2>

Joazeiro, A. C., Martins, J., Masuda, A., Seixas, A., & Junior, I. D. S. V. (2015). A PCR for differentiate between *Anaplasma marginale* and *A. centrale*. *Acta Scientiae Veterinariae*, 43, 1-7.

Jones, W. E., Kliwer, I. O., Norman, B. B., & Brock, W. E. (1968). *Anaplasma marginale* infection in young and aged cattle. *American journal of veterinary research*, 29(3), 535–544.

Jongejan, F., & Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129 Suppl, S3–S14. <https://doi.org/10.1017/s0031182004005967>

Jonsson, N. N., Piper, E. K., & Constantinoiu, C. C. (2014). Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasite immunology*, 36(11), 553–559. <https://doi.org/10.1111/pim.12140>

Kaartinen, L., Salonen, M., Älli, L., & Pyörälä, S. (1995). Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous, intramuscular and subcutaneous injections in lactating cows. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 18(5), 357-362.

Kandeeppan, G., Mendiratta, S. K., Shukla, V., & Vishnuraj, M. R. (2013). Processing characteristics of buffalo meat – A review. *Journal of Meat Science and Technology*, 1 (1), 1–11.

Kashino, S. S., Resende, J., Sacco, A. M., Rocha, C., Proença, L., Carvalho, W. A., Firmino, A. A., Queiroz, R., Benavides, M., Gershwin, L. J., & De Miranda Santos, I. K. (2005). *Boophilus microplus*: the pattern of bovine immunoglobulin isotype responses to high and low tick infestations. *Experimental parasitology*, 110(1), 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2005.01.006>

Kemp, D. H., Koudstaal, D., Roberts, J. A., & Kerr, J. D. (1976). *Boophilus microplus*: the effect of host resistance on larval attachments and growth. *Parasitology*, 73(1), 123–136. <https://doi.org/10.1017/s0031182000051386>

Kierstein, G., Vallinoto, M., Silva, A., Schneider, M. P., Iannuzzi, L., & Brenig, B. (2004). Analysis of mitochondrial D-loop region casts new light on domestic water buffalo (*Bubalus bubalis*) phylogeny. *Molecular phylogenetics and evolution*, 30(2), 308–324. [https://doi.org/10.1016/s1055-7903\(03\)00221-5](https://doi.org/10.1016/s1055-7903(03)00221-5)

Kocan, K. M., de la Fuente, J., & Blouin, E. F. (2008). Advances toward understanding the molecular biology of the *Anaplasma*-tick interface. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 13, 7032–7045. <https://doi.org/10.2741/3208>

Kocan, K. M., de la Fuente, J., Blouin, E. F., Coetzee, J. F., & Ewing, S. A. (2010). The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary parasitology*, 167(2-4), 95–107. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.012>

Kocan, K. M., de la Fuente, J., Guglielmone, A. A., & Meléndez, R. D. (2003). Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clinical microbiology reviews*, 16(4), 698–712. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.4.698-712.2003>

Kocan, K. M., Stiller, D., Goff, W. L., Claypool, P. L., Edwards, W., Ewing, S. A., McGuire, T. C., Hair, J. A., & Barron, S. J. (1992). Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from parasitemic to susceptible cattle. *American journal of veterinary research*, 53(4), 499–507.

Kongsuwan, K., Josh, P., Colgrave, M. L., Bagnall, N. H., Gough, J., Burns, B., & Pearson, R. (2010). Activation of several key components of the epidermal differentiation pathway in cattle following infestation with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *International journal for parasitology*, 40(4), 499–507. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.10.013>

Krawczak, F. S., Nieri-Bastos, F. A., Nunes, F. P., Soares, J. F., Moraes-Filho, J., & Labruna, M. B. (2014). Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. *Parasites & vectors*, 7, 7. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-7>

Kumar, P., Kumar, P., Roy, R.K., Kumari, R.R., Kumar, A., Sarma, K., Sharma, P. and Kumar, M. (2022). Mixed Infection of Tick-borne Haemo-parasites in Water Buffalo and Associated Pathological Responses and Treatment. *Indian Journal of Animal Research*. 56(8): 978-986. DOI: 10.18805/IJAR.B-4450.

Labruna, M. B., Kerber, C. E., Ferreira, F., Faccini, J. L., De Waal, D. T., & Gennari, S. M. (2001). Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinary parasitology*, 97(1), 1–14. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00387-9](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00387-9)

Lancaster, J.L. & Meisch, M.V. (1986). Artrópodes na produção de gado e aves (série Ellis Horwood em acarologia). Chichester, Inglaterra, John Wiley and Sons Ltd.

Lau, H. D. (1999). *Doenças em búfalos no Brasil: diagnóstico, epidemiologia e controle*. Brasília, DF: EMBRAPA-Serviço de produção de Informação; Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 1999.

Levot, G.W. (2000). Resistência e controle de piolhos em humanos e animais de produção. *Revista Internacional de Parasitologia*. 30: 291–297.

Li, J., Liu, X., Mu, J., Yu, X., Fei, Y., Chang, J., Bi, Y., Zhou, Y., Ding, Z., & Yin, R. (2019). Emergence of a Novel *Ehrlichia minasensis* Strain, Harboring the Major Immunogenic Glycoprotein trp36 with Unique Tandem Repeat and C-Terminal Region Sequences, in *Haemaphysalis hystrix* Ticks Removed from Free-Ranging Sheep in Hainan Province, China. *Microorganisms*, 7(9), 369. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090369>

Lima, D. H., Vinhote, W., Ubiali, D. G., Soares, P. C., Cordeiro, M. D., Silva, J. B., Fonseca, A. H., Barbosa, J. D. (2019). Experimental infection by *Anaplasma marginale* in buffaloes and cattle: clinical, hematological, molecular and pathological aspects. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39, 700-709.

Linardi, P. M., & Santos, J. L. (2012). *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 21(4), 345–354. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612012000400002>

Liu, A., Guan, G., Du, P., Gou, H., Zhang, J., Liu, Z., Ma, M., Ren, Q., Liu, J., Yang, J., Li, Y., Niu, Q., Bai, Q., Yin, H., & Luo, J. (2013). Rapid identification and differentiation of *Theileria sergenti* and *Theileria sinensis* using a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Veterinary parasitology*, 191(1-2), 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.08.006>

Liu, Z. L., Ma, L. H., Gao, X. S., Cheng, X. J., Yang, D. J., & Wang, S. Y. (1987). Babesiosis of buffaloes in Hubei province. II. Experimental demonstration of *Rhipicephalus haemaphysaloides* as the vector.

Lobanov, V. A., Gajadhar, A. A., Al-Adhami, B., & Schwantje, H. M. (2012). Molecular Study of Free-ranging Mule Deer and White-tailed Deer from British Columbia, Canada, for Evidence of *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp. *Transboundary and emerging diseases*, 59(3), 233-243.

Lourenço Júnior, J. de B., & Garcia, A. R. (2008). Panorama da bubalinocultura na Amazônia. In *Anais do 1º Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia: Meio ambiente e pecuária*. Belém, PA: FAEPA; Instituto Frutal; SEBRAE-PA. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/409969>

Luo, J., & Lu, W. (1997). Cattle theileriosis in China. *Tropical animal health and production*, 29(4 Suppl), 4S–7S. <https://doi.org/10.1007/BF02632906>

Macaluso, K. R., Pornwiroon, W., Popov, V. L., & Foil, L. D. (2008). Identification of *Rickettsia felis* in the salivary glands of cat fleas. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N. Y.)*, 8(3), 391–396. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0218>

Madruga, C. R., Araújo, F. R., Marques, A. P. C., Carvalho, C. M. E., Cusinato, F. Q., Crocci, A. J., Kessler, R. H., & Migueta, M. (2000). Desenvolvimento de uma prova de imunoadsorção enzimática para detecção de anticorpos contra *Babesia bovis*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 20(4), 167–170. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2000000400007>

Maggi, R. G., Compton, S. M., Trull, C. L., Mascarelli, P. E., Mozayeni, B. R., & Breitschwerdt, E. B. (2013a). Infection with hemotropic *Mycoplasma* species in patients with or without extensive arthropod or animal contact. *Journal of clinical microbiology*, 51(10), 3237–3241. <https://doi.org/10.1128/JCM.01125-13>

Maggi, R. G., Mascarelli, P. E., Havenga, L. N., Naidoo, V., & Breitschwerdt, E. B. (2013b). Co-infection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in a veterinarian. *Parasites & vectors*, 6, 103. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-103>

Mahmmod Y. (2013). Natural *Babesia bovis* Infection in Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*) and Crossbred Cattle under Field Conditions in Egypt: a Preliminary Study. *Journal of arthropod-borne diseases*, 8(1), 1–9.

Mahoney D. F. (1969). Bovine babesiasis: a study of factors concerned in transmission. *Annals of tropical medicine and parasitology*, 63(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/00034983.1969.11686595>

Mahoney, D. F. (1977). *Babesia* of domestic animals. In: KREIER, J.P. Parasitic Protozoa. New York: Academic Press , v. 4, p.1-76.

Marques, D.C. (2003). Criação de bovinos. 7º ed. Belo Horizonte:Ed.Consultoria Veterinária e Publicações, p. 586.

Martinez, M. L., Machado, M. A., Nascimento, C. S., Silva, M. V., Teodoro, R. L., Furlong, J., Prata, M. C., Campos, A. L., Guimarães, M. F., Azevedo, A. L., Pires, M. F., & Verneque, R. S. (2006). Association of BoLA-DRB3.2 alleles with tick (*Boophilus microplus*) resistance in cattle. *Genetics and molecular research : GMR*, 5(3), 513–524.

Martínez-Ocampo, F., Rodríguez-Camarillo, S. D., Amaro-Estrada, I., & Quiroz-Castañeda, R. E. (2016). Draft Genome Sequence of "*Candidatus* Mycoplasma haemobos," a Hemotropic *Mycoplasma* Identified in Cattle in Mexico. *Genome announcements*, 4(4), e00656-16. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00656-16>

Martins, T. F., Barbieri, A. R., Costa, F. B., Terassini, F. A., Camargo, L. M., Peterka, C. R., de C Pacheco, R., Dias, R. A., Nunes, P. H., Marcili, A., Scofield, A., Campos, A. K., Horta, M. C., Guilloux, A. G., Benatti, H. R., Ramirez, D. G., Barros-Battesti, D. M., & Labruna, M. B. (2016). Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). *Parasites & vectors*, 9, 186. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1460-2>

Martins, T. F., Luz, H. R., Muñoz-Leal, S., Ramirez, D. G., Milanelo, L., Marques, S., Sanches, T. C., Onofrio, V. C., da C L Acosta, I., Benatti, H. R., Maturano, R., de Oliveira, P. B., Albuquerque, G. R., Marcili, A., Flausino, W., Silveira, L. F., McIntosh, D., Faccini, J. L. H., & Labruna, M. B. (2019). A new species of *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) associated with monkeys and passerines of the Atlantic rainforest biome, Southeastern Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, 10(6), 101259. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.07.003>

Marufu, M. C., Chimonyo, M., Mans, B. J., & Dzama, K. (2013). Cutaneous hypersensitivity responses to *Rhipicephalus* tick larval antigens in pre-sensitized cattle. *Ticks and tick-borne diseases*, 4(4), 311–316. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.12.001>

Maxie, G.M. (2015). (Ed.) Pathology of Domestic Animals (6th edition), vol. 3, Elsevier, Amsterdam, chapter 2. 1 pp

Meleney, W.P., & Kim, K.C. (1974a). Um estudo comparativo de *Haematopinus* infestante de bovinos, com redescritção de *H. quadripertusus* Fahrenholz, 1916 (Anoplura: Haematopinidae). *O Jornal de Parasitologia*. 507–522.

Meleney, W.P., & Kim, K.C. (1974b). Um estudo comparativo de *Haematopinus* infestante de gado, com redescritção de *H. quadripertusus* Fahrenholz, 1919 (Anoplura: Haematopinidae). *J. Parasitol.* 60: 507- 522.

Meli, M. L., Willi, B., Dreher, U. M., Cattori, V., Knubben-Schweizer, G., Nuss, K., Braun, U., Lutz, H., & Hofmann-Lehmann, R. (2010). Identification, molecular characterization, and occurrence of two bovine hemoplasma species in Swiss cattle and development of real-time TaqMan quantitative PCR assays for diagnosis of bovine hemoplasma infections. *Journal of clinical microbiology*, 48(10), 3563–3568. <https://doi.org/10.1128/JCM.02224-09>

Melo, S., & Carvalho Neta, A. V. (2009). Estratégias de controle na babesia bovina. *Beef Point*.

Meyer, D. F., Moumène, A., & Rodrigues, V. (2023). Microbe Profile: *Ehrlichia ruminantium* - stealthy as it goes. *Microbiology (Reading, England)*, 169(11), 001415. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001415>

Minervino, A.H.H.; Oliveira, M.; Vecchio, D.; Borghese, A. (2020) *Bubalus bubalis*: um conto. *Frente. Veterinário Sci.*, 7, 570413.

Miranpuri G. S. (1988). Ticks parasitising the Indian buffalo (*Bubalus bubalis*) and their possible role in disease transmission. *Veterinary parasitology*, 27(3-4), 357–362. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(88\)90050-7](https://doi.org/10.1016/0304-4017(88)90050-7)

Moaeen-ud-Din, M., & Bilal, G. (2015). Sequence diversity and molecular evolutionary rates between buffalo and cattle. *Journal of animal breeding and genetics = Zeitschrift für Tierzucht und Zuchtungsbiologie*, 132(1), 74–84. <https://doi.org/10.1111/jbg.12100>

Mongruel, A. C. B.; Medici, E. P.; Canena, A. da C.; Calchi, A. C.; Perles, L.; Rodrigues, B. C. B.; Soares, J. F.; Machado, R. Z.; André, M. R. (2022). Theileria terrestris nov. sp.: a novel *Theileria* in lowland tapirs (*Tapirus terrestris*) from two different biomes in Brazil. *Microorganisms*, 10(12), 2319

Moore, C. O., André, M. R., Šlapeta, J., & Breitschwerdt, E. B. (2024). Vector biology of the cat flea *Ctenocephalides felis*. *Trends in parasitology*, 40(4), 324–337. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2024.02.006>

Mota da Costa, A.L., Friciello Teixeira, R.H., Horta Paschoalotti M., Gomes, R.P., Felippi, D.A., Franco, P.N. (2019) Controle de pulgas em cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) de cativeiro com uso de coleira com imidacloprida e flumetrina. *Revista Vet. e Zootec.*; 26:001-007.. Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/177>

Motta-Giraldo, J.L.; Oliveira, J.A.; Waltero-García, I.; Abeledo, M.A. (2014). Prevalencia de Anticuerpos a *Brucella abortus*, *Leptospira* sp. y *Neospora caninum* En Hatos Bovinos y Bubalinos En El Departamento de Caquetá, Colômbia. *Rev. Salud. Anim.* 36, 80–89.

Moumouni, P. F. A., Aplogan, G. L., Katahira, H., Gao, Y., Guo, H., Efstratiou, A., Jirapattharasatea, C., Wanga, G., Liua, M., Ringoa, A. E., Umemiya-Shirafujia, R., Suzukia, H., Xuan, X. (2018). Prevalence, risk factors, and genetic diversity of veterinary important tick-borne pathogens in cattle from *Rhipicephalus microplus*-invaded and non-invaded areas of Benin. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(3), 450–464.

Muraguri, G.R., McLeod, A., McDermott, J.J., (2003). Efficacy of a deltamethrin-based pour-on in the control of tick-borne diseases and trypanosomosis in Kwale District, Kenya. *Insect Sci. Appl.* 23, 69–74. <https://doi.org/10.1017/s1742758400012261>.

Muraro, L. S., Souza, A., Leite, T. N. S., Cândido, S. L., Melo, A. L. T., Toma, H. S., Carvalho, M. B., Dutra, V., Nakazato, L., Cabezas-Cruz, A., Aguiar, D. M. (2021). First Evidence of *Ehrlichia minasensis* Infection in Horses from Brazil. *Pathogens*, 10, 265.

Murigu, M.M., Nana, P., Waruiru, R.M., Nga'nga', C.J., Ekesi, S., Maniania, N.K., 2016. Laboratory and field evaluation of entomopathogenic fungi for the control of amitraz-resistant and susceptible strains of *Rhipicephalus decoloratus*. *Vet. Parasitol.* 225, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.026>.

Nascimento, C. S., Machado, M. A., Guimarães, S. E., Guimarães, M. F., Peixoto, J. O., Furlong, J., Prata, M. C., Verneque, R. S., Teodoro, R. L., & Lopes, P. S. (2010). Differential expression of genes in resistant versus susceptible Gyr x Holstein cattle challenged with the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Genetics and molecular research : GMR*, 9(4), 1974–1979. <https://doi.org/10.4238/vol9-4gmr905>

Nava, S., Beati, L., Labruna, M. B., Cáceres, A. G., Mangold, A. J., & Guglielmone, A. A. (2014). Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum*, and *Amblyomma sculptum* (Ixodida: Ixodidae). *Ticks and tick-borne diseases*, 5(3), 252–276. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.11.004>

Nava, S., Venzal, J., Acuña, D.G., Martins, T., Guglielmone, A. (2017). Ticks of the Southern Cone of America. *Elsevier*, Academic Press, London (372 pp).

Neglia, G., Veneziano, V., De Carlo, E., Galiero, G., Borriello, G., Francillo, M., Campanile, G., Zicarelli, L., & Manna, L. (2013). Detection of *Brucella abortus* DNA and RNA in different stages of development of the sucking louse *Haematopinus tuberculatus*. *BMC veterinary research*, 9, 236. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-236>

Neimark, H., Johansson, K. E., Rikihisa, Y., & Tully, J. G. (2001). Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of 'Candidatus Mycoplasma haemofelis', 'Candidatus Mycoplasma haemomuris', 'Candidatus Mycoplasma haemosuis' and 'Candidatus Mycoplasma wenyonii'. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(Pt 3), 891–899. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-891>

Neveu-Lemaire, M. (1912). Parasitologie des animaux domestiques: maladies parasitaires non bactériennes. J. Lamarre et cie.

Niethammer, F. M., Ade, J., Hoelzle, L. E., & Schade, B. (2018). Hemotrophic mycoplasma in Simmental cattle in Bavaria: prevalence, blood parameters, and transplacental transmission of 'Candidatus Mycoplasma haemobos' and *Mycoplasma wenyonii*. *Acta veterinaria Scandinavica*, 60(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0428-y>

Nishizawa, I., Sato, M., Fujihara, M., Sato, S., & Harasawa, R. (2010). Differential detection of hemotropic *Mycoplasma* species in cattle by melting curve analysis of PCR products. *The Journal of veterinary medical science*, 72(1), 77–79. <https://doi.org/10.1292/jvms.09-0338>

Nithikathkul, C., Polseela, P., Changsap, B., & Leemingsawat, S. (2002). Ixodid ticks on domestic animals in Samut Prakan Province, Thailand. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 33 Suppl 3, 41–44.

Nonga, H.E., Muwonge, A., Mdegela, R.H., 2012. Tick infestations in extensively grazed cattle and efficacy trial of high-cis cypermethrin pour-on preparation for control of ticks in Mvomero district in Tanzania. *BMC Vet. Res.* 8, 224. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-224>

Nuttall, G. H. (1911). On the adaptation of ticks to the habits of their hosts¹. *Parasitology*, 4(1), 46-67.

Obaid, M. K., Islam, N., Alouffi, A., Khan, A. Z., da Silva Vaz, I., Jr, Tanaka, T., & Ali, A. (2022). Acaricides Resistance in Ticks: Selection, Diagnosis, Mechanisms, and Mitigation. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 941831. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.941831>

Obregón, D., Cabezas-Cruz, A., Armas, Y., Silva, J. B., Fonseca, A. H., André, M. R., Alfonso, P., Oliveira, M. C. S., Machado, R. Z., & Corona-González, B. (2019). High co-infection rates of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* in water buffalo in Western Cuba. *Parasitology research*, 118(3), 955–967. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-06194-6>

Obregón, D., Corona, B. G., de la Fuente, J., Cabezas-Cruz, A., Gonçalves, L. R., Matos, C. A., Armas, Y., Hinojosa, Y., Alfonso, P., Oliveira, M. C. S., & Machado, R. Z. (2018). Molecular evidence of the reservoir competence of water buffalo (*Bubalus bubalis*) for *Anaplasma marginale* in Cuba. *Veterinary parasitology, regional studies and reports*, 13, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.06.007>

Obregón, D., Rodríguez Diego, J. G., Roque, E., & Alemán, Y. (2010). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) en búfalo (*Bubalus bubalis*), en Cuba. *Revista de Salud Animal*, 32(2), 132-134.

OIE. Manual de testes diagnósticos e vacinas para animais terrestres, vol. 1–2. 7ª ed. Paris: Office International Des Epizooties; 2014.

Oliveira, A.L. (2005). Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. *Rev Bras Reprod Anim* 29 (2):122-134

Oliveira, M.; Matsumoto, K.; Yokoyama, N.; Inokuma, H. (2010). Comparação do efeito de duas espécies de hemoplasma sobre parâmetros hematológicos em bovinos. *J. Vet. Med. Sci.* 72, 113–115.

Oren A. (2021). Nomenclature of prokaryotic 'Candidatus' taxa: establishing order in the current chaos. *New microbes and new infections*, 44, 100932. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2021.100932>

Paddock, C. D., & Childs, J. E. (2003). *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 16(1), 37-64.

Parodi, P.; Corbellini, L. G.; Leotti, V. B.; Rivero, R.; Miraballes, C.; Riet-Correa, F.; Venzal, J. M.; Armúa-Fernández, M. T. (2021). Validation of a multiplex PCR assay to detect *Babesia* spp. and *Anaplasma marginale* in cattle in Uruguay in the absence of a gold standard test. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 33(1), 73-79.

Paul, B. T., Jesse, F. F. A., Chung, E. L. T., Che-Amat, A., Mohd Lila, M. A., Hashi, H. A., & Norsidin, M. J. (2020). Review of clinical aspects, epidemiology and diagnosis of haemotropic *Mycoplasma ovis* in small ruminants: current status and future perspectives in tropics focusing on Malaysia. *Tropical animal health and production*, 52(6), 2829–2844. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02357-9>

Paz, K. C. R. D. C., Severino-Neto, A. C., Germano, G. L., Nogueira, I. G., Vieira, G. F. A., Palhares, A. C. C., Braga, Í. A., Saturnino, K. C., Pacheco, R. C., & Ramos, D. G. S. (2022). Parasitism of Nelore (*Bos indicus*) calf from northern Brazil by *Ctenocephalides felis*. *Veterinary parasitology, regional studies and reports*, 34, 100770. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100770>

Pereira, M. R., Trein, C. R., Webster, A., Dallagnol, B., Gonchoroski, G. Z., Pellegrini, D. P., Doyle, R., Klafke, G., & Reck, J. (2023). Comparison of Seroprevalence and Identification of Risk Factors for *Theileria equi* in Horses From Vector-Free and Infested Areas in Southern Brazil. *Journal of equine veterinary science*, 126, 104241. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104241>

Pereira-Maia, E. C., Silva, P. P., Almeida, W. B. D., Santos, H. F. D., Marcial, B. L., Ruggiero, R., & Guerra, W. (2010). Tetracyclines and glycylcyclines: an overview. *Química Nova*, 33, 700-706.

Piper, E. K., Jackson, L. A., Bagnall, N. H., Kongsuwan, K. K., Lew, A. E., & Jonsson, N. N. (2008). Gene expression in the skin of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary immunology and immunopathology*, 126(1-2), 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.06.011>

Piper, E. K., Jackson, L. A., Bielefeldt-Ohmann, H., Gondro, C., Lew-Tabor, A. E., & Jonsson, N. N. (2010). Tick-susceptible *Bos taurus* cattle display an increased cellular response at the site of larval *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* attachment, compared with tick-resistant *Bos indicus* cattle. *International journal for parasitology*, 40(4), 431–441. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.09.009>

Piper, E. K., Jonsson, N. N., Gondro, C., Lew-Tabor, A. E., Moolhuijzen, P., Vance, M. E., & Jackson, L. A. (2009). Immunological profiles of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 16(7), 1074–1086. <https://doi.org/10.1128/CVI.00157-09>

Potgieter, F. T., & Stoltz, W. H. (2004). Bovine anaplasmosis.

Promrangsee, C., Khositharattanakool, P., Somwang, P., Sunantaraporn, S., Phumee, A., Preativatanyou, K., Tawatsin, A., Brownell, N., & Siriyasatien, P. (2019). The Prevalence of *Bartonella* Bacteria in Cattle Lice Collected from Three Provinces of Thailand. *Insects*, 10(6), 152. <https://doi.org/10.3390/insects10060152>

Puentes, J. D., & Riet-Correa, F. (2023). Epidemiological aspects of cattle tick fever in Brazil. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária*, 32(1), e014422. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023007>

Rajamannar, V., Govindarajan, R., Kumar, A., & Samuel, P. P. (2022). A review of public health important fleas (Insecta, Siphonaptera) and flea-borne diseases in India. *Journal of vector borne diseases*, 59(1), 12–21. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.328977>

Ramabu, S. S., Schneider, D. A., Brayton, K. A., Ueti, M. W., Graça, T., Futse, J. E., Noh, S. M., Baszler, T. V., & Palmer, G. H. (2011). Expression of *Anaplasma marginale* ankyrin repeat-containing proteins during infection of the mammalian host and tick vector. *Infection and immunity*, 79(7), 2847–2855. <https://doi.org/10.1128/IAI.05097-11>

Riner, A. J., Rudd, J. L., Clifford, D. L., Cypher, B. L., Foley, J. E., & Foley, P. (2018). Comparison of Flea (Siphonaptera) Burdens on the Endangered San Joaquin Kit Fox (*Vulpes macrotis mutica* (Carnivora, Canidae)) Inhabiting Urban and Nonurban Environments in Central Valley, California. *Journal of medical entomology*, 55(4), 995–1001. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy031>

Ristic M. Kreier J.P. (1981). Editors Babesiosis pp I-589. Academic Press, New York.

Ritzmann, M., Grimm, J., Heinritzi, K., Hoelzle, K., & Hoelzle, L. E. (2009). Prevalence of *Mycoplasma suis* in slaughter pigs, with correlation of PCR results to hematological findings. *Veterinary microbiology*, 133(1-2), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.06.015>

Rocha, U. F., Serra, O. P., Grock, R., & Serra, R. G. (1969). Natural infestation of buffaloes-*Bubalus bubalis* in the States of Sao Paulo and Minas Gerais, Brazil, by *Boophilus microplus* and *A. nitens*.

Rodriguez-Valle, M., Lew-Tabor, A., Gondro, C., Moolhuijzen, P., Vance, M., Guerrero, F. D., Bellgard, M., & Jorgensen, W. (2010). Comparative microarray analysis of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* expression profiles of larvae pre-attachment and feeding adult female stages on *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *BMC genomics*, 11, 437. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-437>

Rust M. K. (2017). The Biology and Ecology of Cat Fleas and Advancements in Their Pest Management: A Review. *Insects*, 8(4), 118. <https://doi.org/10.3390/insects8040118>

Ruybal, P., Moretta, R., Perez, A., Petrigh, R., Zimmer, P., Alcaraz, E., Echaide, I., Echaide, S.T., Kocan, K. M., de la Fuente, J. & Farber, M. (2009). Genetic diversity of *Anaplasma marginale* in Argentina. *Veterinary parasitology*, 162(1-2), 176-180.

Sahin, O. F., Erol, U., Duzlu, O., & Altay, K. (2023). Molecular survey of *Anaplasma phagocytophilum* and related variants in water buffaloes: The first detection of *Anaplasma phagocytophilum*-like 1. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 98, 102004. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2023.102004>

Santos, G. B., Gomes, I. M. M., Silveira, J. A. G., Pires, L. C. S. R., Azevedo, S. S., Antonelli, A. C., Ribeiro, M. F. B., & Horta, M. C.. (2017). Tristeza Parasitária em bovinos do semiárido pernambucano. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(1), 1–7. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000100001>

Santos, N. J. R., Brito, D. R. B., Abate, H. L., Paixão, S. F., Soares, E. D. S., Vieira, T. S. W. J., Garcia, J. L., Vieira, R. F. C., & Vidotto, O. (2018). Hemotropic mycoplasmas infection in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from northeastern Brazil. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 56, 27–29. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.12.003>

Scoles, G.A., & Ueti, M.W., (2015). Vector ecology of equine piroplasmosis. *Annu. Rev. Entomol.* 60, 561–580.

Seitzer, U., Bakheit, M. A., Salih, D. E., Ali, A., Haller, D., Yin, H., Schnittger, L., & Ahmed, J. (2007). From molecule to diagnostic tool: *Theileria annulata* surface protein TaSP. *Parasitology research*, 101 Suppl 2, S217–S223. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0685-6>

Shakya, M., Kaveri, K. G., Jamra, S., Singh, M., Fular, A., Agrawal, V., Jatav, G. P., Jayraw, A. K., & Kumar, S. (2022). Detection of deltamethrin, cypermethrin and flumethrin efficacy against buffalo louse-*Haematopinus tuberculatus*. *Tropical animal health and production*, 54(1), 66. <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03063-4>

Sharma, A. K., Kumar, R., Kumar, S., Nagar, G., Singh, N. K., Rawat, S. S., Dhakad, M. L., Rawat, A. K., Ray, D. D., & Ghosh, S. (2012). Deltamethrin and cypermethrin resistance status of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from six agro-climatic regions of India. *Veterinary parasitology*, 188(3-4), 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.050>

Shi, H., Duan, L., Liu, F., Hu, Y., Shi, Z., Chen, X., Yang, H., Yan, B., & Yao, L. (2019a). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks as reservoir and vector of 'Candidatus Mycoplasma haemobos' in China. *Veterinary parasitology*, 274, 108929. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108929>

Shi, H., Hu, Y., Leng, C., Shi, H., Jiao, Z., Chen, X., Peng, Y., Yang, H., Kan, Y., & Yao, L. (2019b). Molecular investigation of "Candidatus Mycoplasma haemobos" in goats and sheep in central China. *Transboundary and emerging diseases*, 66(1), 22–27. <https://doi.org/10.1111/tbed.13021>

Silva, J. B. da ., Lopes, C. T. de A., Souza, M. G. S. de ., Gibson, A. F. B., Vinhote, W. M. de S., Fonseca, A. H. da ., Araújo, F. R. de ., & Barbosa-Neto, J. D. (2014b). Detecção sorológica e molecular de *Anaplasma marginale* em búfalos na Ilha de Marajó, Pará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(1), 11–14. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000100002>

Silva, J. B., Cabezas-Cruz, A., Fonseca, A. H., Barbosa, J. D., & de la Fuente, J. (2014a). Infection of water buffalo in Rio de Janeiro Brazil with *Anaplasma marginale* strains also reported in cattle. *Veterinary parasitology*, 205(3-4), 730–734. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.09.009>

Silva, T. M., Areco, W. V. C., Faccin, T. C., Melo, S. M. P., Figuera, R. A., & Kommers, G. D.. (2018). Caracterização histoquímica no diagnóstico da babesiose bovina por *Babesia bovis*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(4), 649–658. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5254>

Silveira, J. A. G., de Oliveira, C. H. S., Silvestre, B. T., Albernaz, T. T., Leite, R. C., Barbosa, J. D., Oliveira, C. M. C., & Ribeiro, M. F. B. (2016). Molecular assays reveal the presence of *Theileria* spp. and *Babesia* spp. in Asian water buffaloes (*Bubalus bubalis*, Linnaeus, 1758) in the Amazon region of Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, 7(5), 1017–1023. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.05.009>

Silveira, J. A., Rabelo, E. M., Lima, P. C., Chaves, B. N., & Ribeiro, M. F. (2014). *Post-mortem* hemoparasite detection in free-living Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer 1814). *Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 23(2), 206–215. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612014035>

Singh, N. K., Haque, M., Jyoti, Rath, S. S., & Ghosh, S. (2011). First report of *Ctenocephalides felis felis* infestation of buffalo calves in Punjab, India. *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology*, 35(2), 235–236. <https://doi.org/10.1007/s12639-011-0038-3>

Sinha, S., Behera, B. K., Padhi, S. K., Sahoo, S., Sahoo, N., Biswal, S., & Sahoo, P. (2023). Comparative evaluation of diagnostic methods for detection of *Theileria* spp. in cows. *Animal Biotechnology*, 34(8), 3514–3518. <https://doi.org/10.1080/10495398.2023.2168197>

Sivakumar, T., Tattiyapong, M., Fukushi, S., Hayashida, K., Kothalawala, H., Silva, S. S., Vimalakumar, S. C., Kanagaratnam, R., Meewewa, A. S., Suthaharan, K., Puvirajan, T., de Silva, W. K., Igarashi, I., & Yokoyama, N. (2014). Genetic characterization of *Babesia* and *Theileria* parasites in water buffaloes in Sri Lanka. *Veterinary parasitology*, 200(1-2), 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.029>

Sonenshine, D. E., & Roe, R. M. (Eds). (2013). *Biologia dos carrapatos* (Vol. 2). Nova Iorque: Oxford University Press.

Song, Q., Wang, L., Fang, R., Khan, M. K., Zhou, Y., & Zhao, J. (2013). Detection of *Mycoplasma wenyonii* in cattle and transmission vectors by the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Tropical animal health and production*, 45(1), 247–250. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0197-y>

Soulsby, E.J.L. - Livro didático de parasitologia clínica veterinária. Volume I, 1965.
Spickett, A. M., De Klerk, D., Enslin, C. B., & Scholtz, M. M. (1989). Resistance of Nguni, Bonsmara and Hereford cattle to ticks in a Bushveld region of South Africa. *The Onderstepoort journal of veterinary research*, 56(4), 245–250.

Srivastava, R. P., & Ahluwalia, S. S. (1974). A clinical case of anaplasmosis in buffalo.

Stagg, D. A., Young, A. S., Leitch, B. L., Grootenhuys, J. G., & Dolan, T. T. (1983). Infection of mammalian cells with *Theileria* species. *Parasitology*, 86(2), 243-254.

Stockham, S. L., & Scott, M. A. (2011). Fundamentos de patologia clínica veterinária. *Rio de Janeiro: Guanabara Koogan*, cap, 8, 368-375.

Strugnell, B., & McAuliffe, L. (2012). *Mycoplasma wenyonii* infection in cattle. *In Practice*, 34(3), 146-154.

Su, Q. L., Song, H. Q., Lin, R. Q., Yuan, Z. G., Yang, J. F., Zhao, G. H., Huang, W. Y., & Zhu, X. Q. (2010). The detection of "*Candidatus* *Mycoplasma haemobos*" in cattle and buffalo in China. *Tropical animal health and production*, 42(8), 1805–1808. <https://doi.org/10.1007/s11250-010-9640-0>

Suarez, C. E., & Noh, S. (2011). Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Veterinary parasitology*, 180(1-2), 109–125. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.032>

Sykes, J. E.; Tasker, S. (2014). Infecções por hemoplasmas. In: SYKES, J. E. (ed.). *Doenças infecciosas de cães e gatos*. São Luís: W.B. Saunders. p. 390–398.

Tagawa, M., Matsumoto, K., & Inokuma, H. (2008). Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and '*Candidatus* *Mycoplasma haemobos*' in cattle in Hokkaido, Japan. *Veterinary microbiology*, 132(1-2), 177–180. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.05.006>

Tajeri, S., Haidar, M., Sakura, T., & Langsley, G. (2021). Interaction between transforming *Theileria* parasites and their host bovine leukocytes. *Molecular microbiology*, 115(5), 860-869.

Tatsukawa, F., Nohara, R., Taniguchi, T., Goto, A., Misawa, N., & Katamoto, H. (2021). Detection of *Mycoplasma wenyonii* and "*Candidatus* *Mycoplasma haemobos*" from Japanese Black breeding cows in Kyushu and Okinawa region, southern part of Japan. *The Journal of veterinary medical science*, 83(1), 9–16. <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0505>

Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. (2015). *Veterinary parasitology*. John Wiley & Sons.

Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2010). *Parasitologia veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 742.

Tellam R. L., Smith D., Kemp D. H., Willadsen P. (1992). Vaccination against ticks, in *Animal Parasite Control Utilizing Biotechnology*, ed Yong W.K. (Boca Raton, FL: CRC Press Inc.), 303–331.

Terkawi, M. A., Huyen, N. X., Shinuo, C., Inpankaew, T., Maklon, K., Aboulaila, M., Ueno, A., Goo, Y. K., Yokoyama, N., Jittapalapong, S., Xuan, X., & Igarashi, I. (2011). Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the northeast region of Thailand. *Veterinary parasitology*, 178(3-4), 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.01.041>

Thongmeesee, K., Chonglomkrod, B., Srisakdi, C., Saributr, M., Suksai, P., Kamkong, P., & Tiawsirisup, S. (2022). Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and its closely related hemotropic *Mycoplasma* sp. in blood-sucking flies from a buffalo farm in Chachoengsao province, Thailand. *Acta tropica*, 235, 106647. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106647>

Toure, A., Sanogo, M., Sghiri, A., & Sahibi, H. (2023). Diagnostic accuracy of an indirect enzyme linked immunosorbent assay (iELISA) for screening of *Babesia bovis* in cattle from West Africa. *Life*, 13(1), 203.

Trager, W. (1939). Acquired immunity to ticks. *The Journal of parasitology*, 25(1), 57-81.

Uilenberg G. (1995). International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health. *Veterinary parasitology*, 57(1-3), 19-41. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)03107-8](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)03107-8)

Uilenberg G. (2006). *Babesia*--a historical overview. *Veterinary parasitology*, 138(1-2), 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.035>

Uilenberg, G., Perié, N. M., Lawrence, J. A., de Vos, A. J., Paling, R. W., & Spanjer, A. A. (1982). Causal agents of bovine theileriosis in southern Africa. *Tropical animal health and production*, 14(3), 127-140. <https://doi.org/10.1007/BF02242143>

Van Amstel, S. R., & Oberem, P. T. (1987). The treatment of heartwater. *The Onderstepoort journal of veterinary research*, 54(3), 475-479.

Veneziano, V., Rinald, G. C., Neglia, G., Campanile, G., Cringoli, G. (2004). Efficacia della eprinomectina *pour-on* contro *Haematopinus tuberculatus* nel bufalo di razza Mediterranea Italiana (*Bubalus bubalis*) ed influenza del trattamento sulla produzione di latte. *Bubalus bubalis*, v.2, p.56-65.

Veríssimo, C. J., D'Agostino, S. M., Pessoa, F. F., de Toledo, L. M., & Santos, I. K. (2015). Length and density of filiform tongue papillae: differences between tick-susceptible and resistant cattle may affect tick loads. *Parasites & vectors*, 8, 594. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1196-4>

Verissimo, C. J., Nicolau, C. V. J., Cardoso, V. L., & Pinheiro, M. G. (2002). Haircoat characteristics and tick infestation on gyr (zebu) and crossbred (holdstein x gyr) cattle. *Archivos de zootechnia*, 51(195), 389-392.

Villanueva, MA; Mingala, C.N.; Tubalinal, G.A.S.; Gaban, P.B.V.; Oliveira, C.; Suzuki, Y. (2018). Emerging Infectious Diseases in Water Buffalo: An Economic and Public Health Concern. *Emerging Infectious Diseases in Water Buffalo - An Economic and Public Health Concern*; DOI: [10.5772/intechopen.73395](https://doi.org/10.5772/intechopen.73395)

Vinodkumar, K., Shyma, V., Justin, D. K., Ashok, S., Anu, J. P., Mini, K., Muhammedkutty, V., Sasidharan, S., & Chullipparambil, S. (2016). Fatal *Theileria orientalis* N2 genotype infection among Asian water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in a commercial dairy farm in Kerala, India. *Parasitology*, 143(1), 69-74. <https://doi.org/10.1017/S0031182015001468>

- Vudriko, P., Okwee-Acai, J., Byaruhanga, J., Tayebwa, D. S., Okech, S. G., Tweyongyere, R., Wampande, E. M., Okurut, A. R. A., Mugabi, K., Muhindo, J. B., Nakavuma, J. L., Umemiya-Shirafuji, R., Xuan, X., & Suzuki, H. (2018). Chemical tick control practices in southwestern and northwestern Uganda. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(4), 945–955. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.03.009>
- Vudriko, P., Okwee-Acai, J., Tayebwa, D. S., Byaruhanga, J., Kakooza, S., Wampande, E., Omara, R., Muhindo, J. B., Tweyongyere, R., Owiny, D. O., Hatta, T., Tsuji, N., Umemiya-Shirafuji, R., Xuan, X., Kanameda, M., Fujisaki, K., & Suzuki, H. (2016). Emergence of multi-acaricide resistant *Rhipicephalus* ticks and its implication on chemical tick control in Uganda. *Parasites & vectors*, 9, 4. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1278-3>
- Wambura, P. N., Gwakisa, P. S., Silayo, R. S., & Rugaimukamu, E. A. (1998). Breed-associated resistance to tick infestation in *Bos indicus* and their crosses with *Bos taurus*. *Veterinary parasitology*, 77(1), 63–70. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(97\)00229-x](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(97)00229-x)
- Watts, J. G., Playford, M. C., & Hickey, K. L. (2016). *Theileria orientalis*: a review. *New Zealand veterinary journal*, 64(1), 3–9. <https://doi.org/10.1080/00480169.2015.1064792>
- Whiting, M. F., Whiting, A. S., Hastriter, M. W., & Dittmar, K. (2008). A molecular phylogeny of fleas (Insecta: Siphonaptera): origins and host associations. *Cladistics*, 24(5), 677–707.
- Wikel S. K. (1996). Host immunity to ticks. *Annual review of entomology*, 41, 1–22. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.000245>
- Willadsen, P., & Kemp, D. H. (1988). Vaccination with 'concealed' antigens for tick control. *Parasitology today (Personal ed.)*, 4(7), 196–198. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(88\)90084-1](https://doi.org/10.1016/0169-4758(88)90084-1)
- Witter, R., Melo, A. L. T., Pacheco, T. dos A., Meneguzzi, M., Boas, R. V., Dutra, V., Nakazato, L., Chitarra, C. S., Oliveira, A. C. S. de ., & Pacheco, R. C.. (2017). Prevalence of '*Candidatus* Mycoplasma haemobos' detected by PCR, in dairy cattle from Ji-Paraná in the north region of Brazil. *Ciência Rural*, 47(3), e20160805. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160805>
- Yan, Z., Liu, J., Chen, T., Cheng, Z., Guo, H., Wang, Z., Wang, Y. (2008). Treatment of *Mycoplasma wenyonii* infection in cows with imidocarb dipropionate injection-acupuncture. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 1(2), 143–148.
- Yin, H., Luo, J., & Lu, W. (2008). Control of tropical theileriosis with attenuated schizont vaccine in China. *Vaccine*, 26 Suppl 6, G11–G13. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.09.069>
- Yousef, S. G., Sobhy, N. M., Gouda, H., & Emam, M. H. (2024). Sero epidemiological study on bovine babesiosis in cattle and buffaloes in Sharkia Governorate, Egypt. *Open veterinary journal*, 14(7), 1577–1584. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2024.v14.i7.7>

Youssefi, M. R., Ebrahimpour, S., Rezaei, M., Ahmadpour, E., Rakhshanpour, A., & Rahimi, M. T. (2014). Dermatitis caused by *Ctenocephalides felis* (cat flea) in human. *Caspian journal of internal medicine*, 5(4), 248–250.

Zhang, Z. H. (1997). A general review on the prevention and treatment of *Theileria annulata* in China. *Veterinary parasitology*, 70(1-3), 77-81.

Zhao, J. L., Liu, Z. L., Yao, B. A., & Ma, L. H. (2002). Culture-derived *Babesia orientalis* exoantigens used as a vaccine against buffalo babesiosis. *Parasitology research*, 88(13 Suppl 1), S38–S40. <https://doi.org/10.1007/s00436-001-0569-0>

Zhou, S. H., Xiao, X., Sun, Y. N., Xu, X. H., Ding, X., Zhang, S. Y., Zhang, M., Lv, W. L., & Gao, Q. H. (2019). *Ehrlichia* species in pond-farmed leeches (*Hirudinaria* sp.) in Hubei Province, China. *PloS one*, 14(4), e0215082. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215082>

Zhyldyz, A., Sivakumar, T., Igarashi, I., Gunasekara, E., Kothalawala, H., Silva, S. S. P., & Yokoyama, N. (2019). Epidemiological survey of *Anaplasma marginale* in cattle and buffalo in Sri Lanka. *Journal of Veterinary Medical Science*, 81(11), 1601-1605.

ANEXOS:

ANEXO I – Declaração CEUA/EPAMIG



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - EPAMIG

(CEUA / EPAMIG)

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado “**Aspectos bionômicos de *Rhipicephalus microplus* em búfalos (*Bubalus bubalis*)**” (Protocolo 12/2023), em que se utilizará animais da espécie bovina, sob responsabilidade do(a) pesquisador(a) Dr. **Daniel Sobreira Rodrigues**, está de acordo com os princípios éticos e de experimentação animal da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais e que foi aprovado pela referida instituição.

Belo Horizonte, 20 de dezembro de 2023

Documento assinado digitalmente
gov.br CRISTIANE VIANA GUIMARAES LADEIRA
Data: 20/12/2023 16:12:56-0900
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Comissão de Ética no Uso de Animais da EPAMIG
(CEUA / EPAMIG)

Cristiane Viana Guimarães Ladeira
Coordenadora da CEUA / EPAMIG

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Avenida José Cândido da Silveira, 1697 – Cidade Nova
Fone.: (031) 3489.5067 – FAX.: (031) 3489.5064
Vinculada à Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ANEXO II – Declaração aprovação de Comitê de Ética e Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise de fatores de risco para hemopatógenos e seus vetores em propriedades leiteiras de búfalos da microrregião de Bom Despacho (MG), Brasil.

Pesquisador: JULIA ANGELICA GONCALVES DA SILVEIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 78285424.8.0000.5149

Instituição Proponente: ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.771.452

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo transversal, em que os envolvidos irão aplicar um questionário aos produtores de búfalos leiteiros, em 25 propriedades localizadas na microrregião de Bom Despacho, MG, sendo as propriedades selecionadas por possuírem animais com zero a 12 meses de idade de acordo com os dados constatados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) sobre as propriedades cadastradas em 2022. O questionário a ser aplicado, refere-se a 51 questões fechadas e abertas, com o objetivo de levantar informações sobre a caracterização dos produtores, assim como a percepção sobre os carrapatos e suas consequências (transmissão de hemopatógenos) e, da atitude em relação ao combate ao carrapato e pulgas dos búfalos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo primário: analisar fatores de risco para hemopatógenos e seus vetores em búfalos em Minas Gerais.

Objetivo secundário: levantar informações sobre a caracterização dos produtores de leite de búfala na microrregião de Bom Despacho (MG), assim como a percepção sobre carrapatos e suas consequências (transmissão de hemopatógenos) e, da atitude em relação ao combate aos ectoparasitos (carrapatos e piolhos) dos búfalos.

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 6.771.452

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: esta pesquisa poderá eventualmente causar momentos de timidez ou cansaço aos participantes, sobre as quais em caso de ocorrência realizaremos uma pausa para descanso ou ainda, o participante terá a liberdade de não responder a pergunta e/ou desistir de terminar o questionário.

Benefícios: estão relacionados ao retorno levado aos produtores como forma de conhecimento na área que está em ascensão, principalmente em relação ao manejo sanitário dos seus animais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante para a área da Parasitologia Veterinária, conforme parecer da Câmara Departamental em Medicina Veterinária Preventiva, com término previsto para 31/12/2024.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados: folha de rosto devidamente assinada, declaração de aprovação do departamento e parecer do mesmo, roteiro de entrevista, cronograma da pesquisa, brochura do projeto em questão, TCLE devidamente elaborado.

Recomendações:

Recomendamos a aprovação do projeto "Análise de fatores de risco para hemopatógenos e seus vetores em propriedades leiteiras de búfalos da microrregião de Bom Despacho (MG), Brasil".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos favoráveis a aprovação do projeto "Análise de fatores de risco para hemopatógenos e seus vetores em propriedades leiteiras de búfalos da microrregião de Bom Despacho (MG), Brasil" da pesquisadora responsável JULIA ANGELICA GONCALVES DA SILVEIRA.

Considerações Finais a critério do CEP:

CEP/UFMG recomenda aos pesquisadores comunicarem toda e qualquer alteração do projeto e o termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa, apresentar na forma de notificação os relatórios parciais do andamento do mesmo a cada seis meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 6.771.452

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2288003.pdf	03/04/2024 11:28:05		Aceito
Outros	CARTARESPOSTA.pdf	03/04/2024 11:27:40	JOAO PAULO SOARES ALVES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOQUESTIONARIO.pdf	03/04/2024 11:27:17	JOAO PAULO SOARES ALVES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	03/04/2024 11:27:02	JOAO PAULO SOARES ALVES	Aceito
Outros	JUSTIFICATIVA_ALTERACOES_TITULO_CEP.pdf	17/03/2024 17:49:52	JOAO PAULO SOARES ALVES	Aceito
Outros	Parecer_consultado.pdf	11/03/2024 10:03:40	JOAO PAULO SOARES ALVES	Aceito
Folha de Rosto	Projetoassinado.pdf	05/03/2024 13:41:56	JOAO PAULO SOARES ALVES	Aceito
Outros	QUESTIONARIO.pdf	29/02/2024 16:08:19	JOAO PAULO SOARES ALVES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 17 de Abril de 2024

Assinado por:
Corinne Davis Rodrigues
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3408-4582

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

ANEXO III – Declaração aprovação em Comitê de Ética no uso de animais (UFMG)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.

Protocolo CEUA: 43/2024

Título do projeto: ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA HEMOPATÓGENOS E SEUS VETORES EM PROPRIEDADES LEITEIRAS DE BÚFALOS NA MICRORREGIÃO DE BOM DESPACHO, MINAS GERAIS, BRASIL

Finalidade: Pesquisa

Pesquisador responsável: Julia Angelica Goncalves da Silveira

Unidade: Escola de Veterinária

Departamento: Departamento de Medicina Veterinária Preventiva

Situação atual: **Decisão Final - Aprovado**

Aprovado na reunião ordinária on-line do dia 25/03/2024. Validade: 25/03/2024 à 24/03/2029.

Belo Horizonte, 25/03/2024.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - cetea@prpq.ufmg.br

ANEXO IV – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (questionário)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do Projeto: Análise de fatores de risco para hemopatógenos e seus vetores em propriedades leiteiras de búfalos da microrregião de Bom Despacho (MG), Brasil.

Prezado(a),

Entro em contato para solicitar sua participação voluntária em uma entrevista que será conduzida como parte de um estudo sobre o manejo sanitário e doenças de búfalos dentro da microrregião de Bom Despacho-MG. Este estudo será feito pelo aluno de mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da UFMG, João Paulo Soares Alves, que está sendo orientado pelos professores Dra. Júlia Angélica Gonçalves da Silveira (DMVP/EV-UFMG) e Dr. Daniel Sobreira Rodrigues (EPAMIG). O objetivo é conhecer melhor o cenário das doenças causadas por parasitos de sangue e seus vetores (carrapato, mosca e piolho) em bubalinos, assim como o conhecimento dos produtores com essa espécie.

Gostaria de ressaltar que sua participação é completamente voluntária, e sua decisão de aceitar ou recusar não terá impacto algum nas suas relações comerciais ou em sua imagem pública. O processo de entrevista será conduzido de forma sigilosa e anônima para garantir a confidencialidade das informações fornecidas.

Os 12 municípios incluídos dentro da microrregião de Bom Despacho (MG) são: Bom Despacho, Lagoa da Prata, Luz, Dorcas do Indaiá, Martinho Campos, Araújo, Moema, Japaraíba, Quartel Geral, Estrela do Indaiá, Leandro Ferreira e Serra da Saudade. Para isso, será feita apenas uma visita por propriedade, na qual será aplicado um questionário com 51 questões (abertas e fechadas) com os seguintes temas: Caracterização da propriedade; Conhecimento do proprietário em relação ao carrapato, à transmissão de doenças e parasitos; e Métodos de controle para carrapatos e piolhos. O tempo estimado de duração é de 25 a 30 minutos, ao responder o questionário, você poderá se sentir desconfortável com algumas questões ou se sentir cansado, caso isso aconteça, o(a) Sr.(a) poderá pausar o preenchimento, não responder à questão/desistir da participação ou pausar para descanso sem qualquer penalidade.

Durante a prática, a equipe poderá fazer fotografia ou filmagens do participante, do local e dos animais, as quais serão armazenadas por até 5 anos para que possam ser usadas para fins acadêmicos (publicações e apresentações orais). O uso das imagens pode ser classificado como um risco ao participante, sendo assim, para evitar possíveis problemas, estas não sofrerão nenhum tipo de alteração com filtros, podendo ocultar a face para manter o sigilo e não identificação da propriedade.

 eu autorizo a gravação e utilização de imagem para fins acadêmicos, caso não seja identificada e nem publicada.

 eu autorizo a gravação e utilização de imagem para fins acadêmicos, podendo ser publicada com identificação e sem nenhum tipo de filtro ou alteração na imagem.

Os benefícios deste estudo estão relacionados ao retorno levado aos produtores como forma de conhecimento na área que está em ascensão, principalmente em relação ao manejo sanitário dos seus animais. Assim como, dar o diagnóstico das doenças estudadas nos animais da fazenda. Os dados obtidos através desta pesquisa serão confidenciais e utilizados em trabalhos científicos sem revelar a identidade do participante, não sendo utilizados para outros fins.

Participante: _____ Pesquisador: _____

O(A) Sr.(a) não terá qualquer tipo de despesa para participar da pesquisa e não receberá remuneração por sua participação. Além disso, possíveis danos ao participante advindos da pesquisa são passíveis de ressarcimento e indenização por parte da equipe do projeto. Em casos de desconforto, cansaço ou se sinta intimidado, o(a) Sr.(a) tem o direito de dar uma pausa para descanso, não responder à pergunta ou desistir do questionário.

Em caso de dúvidas sobre o estudo, você pode entrar em contato com os seguintes contatos:

MESTRANDO	ORIENTADOR	ORIENTADOR
João Paulo Soares Alves	Júlia Angélica Gonçalves da Silveira	Daniel Sobreira Rodrigues
joaopsavet@gmail.com	jangelicas@gmail.com	dsrodrigues.epamig@gmail.com
(38) 999528258	(31) 999329236	(31) 999243445

Para questões éticas, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG está disponível no seguinte endereço:

CEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901. E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: 34094592

Ao concordar em participar, você indica sua compreensão e consentimento voluntário. Por favor, assine e retorne uma cópia deste termo para joaopsavet@gmail.com

Agradecemos antecipadamente por sua contribuição valiosa para este estudo.

Atenciosamente,

João Paulo Soares Alves.

Eu, _____, portador do documento de identidade _____ fui informado (a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa “ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA HEMOPATÓGENOS E SEUS VETORES EM PROPRIEDADES LEITEIRAS DE BÚFALOS DA MICRORREGIÃO DE BOM DESPACHO (MG), BRASIL” de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Nome completo do Participante: _____

Telefone de Contato: _____

Assinatura do participante: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Assinatura do orientador: _____

ANEXO V – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (coleta de sangue)

Universidade Federal de Minas Gerais

Análise de fatores de risco para hemopatógenos e seus vetores em propriedades leiteiras de búfalos na microrregião de Bom Despacho, Minas Gerais, Brasil.

Pesquisador: Júlia Angélica Gonçalves da Silveira

CIAEP/CEUA: 02.044.2019

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Objetivos do estudo: Avaliar a possível transmissão de hemopatógenos de carrapatos para búfalos; levantar prevalência de Tristeza Parasitária em búfalos da microrregião de Bom Despacho – MG. **Procedimentos a serem realizados com os animais:** As visitas serão feitas em 25 fazendas criadoras de bubalinos leiteiros na microrregião de Bom Despacho – MG envolvendo os municípios de Lagoa da Prata, Luz, Dorcas do Indaiá, Martinho Campos, Araújo, Moema, Japaraíba, Quartel Geral, Estrela do Indaiá, Leandro Ferreira e Serra da Saudade. Estas foram escolhidas por possuírem animais com 0 a 12 meses de idade de acordo com os dados constatados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) sobre as propriedades cadastradas em 2022, podendo assim variar até a época da coleta. Os animais serão escolhidos aleatoriamente, contando que estejam dentro da faixa etária de 0 a 12 meses. Em casos de não ter essa quantidade estipulada, a coleta será feita de todos os animais da faixa etária. Estes serão contidos em bretes e caso necessário haverá o auxílio com cordas para que possa ser feita a punção da veia jugular, e caso não seja possível, será feita uma tentativa pela veia coccígea. Caso a fazenda não tenha estrutura, os animais contidos manualmente em decúbito lateral. Após realizar a coleta de sangue os animais passarão por uma avaliação à procura de ectoparasitos (carrapatos e piolhos). As amostras de sangue serão coletadas em tubos com e sem coagulante (Ácido Etilenodiaminotetracético-EDTA) após a higienização do local com álcool 70% e, serão armazenados em caixas de isopor com gelo até a chegada ao laboratório de Protozoologia Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG. E ainda, os esfregaços sanguíneos serão feitos com a coleta de sangue periférico (ponta da cauda ou da orelha), com auxílio de agulhas estéreis para lancetar os vasos capilares. **Potenciais riscos para os animais:** é possível que a contenção cause estresse, desconforto, irritabilidade e possíveis lesões (inchaço, vermelhidão e dor). **Cronograma:** A estimativa para o resultado do presente estudo é de seis meses a partir do início das coletas, que serão iniciadas após a aprovação pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA). **Benefícios:** Ao final dos exames, todos os diagnósticos serão informados aos proprietários, assim como recomendações para tratamento dos seus animais. De acordo com os

resultados, o proprietário terá maiores informações do seu rebanho, podendo assim melhorar o manejo sanitário dos búfalos e outros animais, em casos de criação multiespécie.

Esclarecimentos ao proprietário sobre a participação do animal neste projeto:

Sua autorização para a inclusão do(s) seu(s) animal(is) nesse estudo é voluntária. Seu(s) animal(is) poderá(ão) ser retirado(s) do estudo, a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo a ele(s). A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada. Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações e, nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares.

O Médico Veterinário responsável pelo(s) seu(s) animal(is) será o(a) Dr(a) Júlia Angélica Gonçalves da Silveira, inscrito (a) no CRMV sob o nº 8185. Além dele, a equipe do Pesquisador Principal: Dr^a. Camila de Valgas e Bastos Castro (EV-UFMG); Dr. Daniel Sobreira Rodrigues (EPAMIG); João Paulo Soares Alves (Pós-Graduando da EV-UFMG), Pedro Henrique Cotrin Rodrigues (Pós-graduando da EV-UFMG), também se responsabilizará pelo bem-estar do (s) seu (s) animal (is) durante todo o estudo e ao final dele. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato com o Pesquisador Principal ou com a sua equipe pelos contatos:

Tel. de emergência: (38) 999582858

Equipe: João Paulo Soares Alves

Endereço: Rua Professor Afonso dos Santos n29 apto 202 Bairro Ouro Preto (Belo Horizonte MG)

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Fui devidamente esclarecido(a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao(s) animal(is) pelo(s) qual(is) sou responsável. Fui também informado que posso retirar meu(s) animal(is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do(s) meu(s) animal(is) identificado(s), a seguir, neste projeto.

Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

_____, ____ de _____ de _____

Assinatura do Responsável: _____

Assinatura do Pesquisador Responsável: _____

Nome: _____

Documento de Identidade (quando aplicável): _____

ANEXO VI - Questionário

QUESTIONÁRIO

PROJETO: ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA HEMOPATÓGENOS E SEUS VETORES EM PROPRIEDADES LEITEIRAS DE BÚFALOS DA MICRORREGIÃO DE BOM DESPACHO (MG), BRASIL.

Entrevistado: _____

Entrevistador: _____ **Data:** ____/____/____

Propriedade: _____ **Município:** _____

INFORMAÇÕES SOBRE A PROPRIEDADE

- 1) Nome do proprietário

- 2) Nome da fazenda

- 3) Município

- 4) Quantidade de funcionários

- 5) Tamanho do rebanho
(machos/fêmeas/idade)
 - a) Machos: ____ (0-12 meses)
____ (13-24 meses)
____ (>24 meses)
 - b) Fêmeas: ____ (0-12 meses)
____ (13-24 meses)
____ (>24 meses)
- 6) Tipo de rebanho
 - a) () Rebanho aberto
 - b) () Rebanho fechado
- 7) Raça
 - a) Mediterrâneo
 - b) Murrah
 - c) Mestiço
 - d) Outras: _____
- 8) Tipo de produção:
 - a) Leite ()
 - b) Carne ()
 - c) Misto ()
- 9) Qual a produção diária de leite:
 - a) 0-100 litros
 - b) 100-200 litros
 - c) 200-300 litros
 - d) 300-400 litros
 - e) >400 litros
 - i) _____ litros
- 10) Sistema de manejo:
 - a) Intensivo ()
 - b) Extensivo ()
 - c) Semi-extensivo ()
- 11) Presença de gado bovino:
 - a) Sim ()
 - b) Não ()
 - c) Se sim, compartilha algum local com os búfalos?
 - i) () Não
 - ii) () pastos
 - iii) () sala de ordenha
 - iv) () outros
- 12) Presença de porcos:
 - a) Sim ()
 - b) Não ()
- 13) Presença de cachorros:
 - a) Sim ()
 - b) Não ()
- 14) Presença de gatos:
 - a) Sim ()
 - b) Não ()
 - c) Onde?
 - i) () pasto
 - ii) () baias
 - iii) () galpões de alimentos
- 15) Presença de cavalos:
 - a) Sim ()
 - b) Não ()
 - c) Se sim, compartilha algum local com os búfalos?
 - i) Sim ()
 - ii) Não ()

16) Presença de aves:

- a) Sim ()
- b) Não ()

17) Contato com animais silvestres:

- a) Sim ()
- b) Não ()
- c) Quais?

c) Cavalo ()

d) Outros ()

25) Estes carrapatos são diferentes dos do búfalo?

- a) Sim ()
- b) Não ()
- c) Como?

CONHECIMENTO SOBRE A BIOLOGIA DO CARRAPATO

18) Quanto tempo um carrapato fica em cima de um búfalo?

- a) 10 dias
- b) 20 dias
- c) 30 dias

19) Quanto tempo um carrapato vive?

Duração do ciclo

- a) 10 dias
- b) 20 dias
- c) 30 dias

20) Quando época do ano tem mais carrapato no rebanho?

- a) ano todo
- b) na seca
- c) nas águas

21) Em quais meses?

Jan () Fev () Mar () Abr () Mai ()

Jun () Jul () Ago () Set () Out ()

Nov () Dez ()

22) Quanto tempo um pasto tem que ficar em descanso, sem gado, para ficar livre de carrapatos

- a) 1 mês
- b) 3 meses
- c) 1 ano

23) Quantos ovos uma fêmea de carrapato bota?

- a) 100
- b) 1000
- c) 3000

24) Aparece carrapato nos outros animais?

- a) Bovinos ()
- b) Cachorro ()

IMPORTÂNCIA DO CARRAPATO NA PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE:

26) Quais os prejuízos você acha que o carrapato pode causar? Pode marcar mais de uma alternativa ou falar alguma que não esteja nas opções.

- a) Diminuição na produção de leite
- b) Atraso no ganho de peso ou perda de peso
- c) Outros

27) Por que isso acontece? O que o carrapato faz para conseguir isto?

- a) Suga o sangue do animal
- b) Passa doença para o animal
- c) O animal sofre
- d) Todas as alternativas

28) Até quantos por cento a produção de leite pode diminuir por causa do carrapato se deixar de banhar o rebanho?

- a) 10-20%
- b) 20-40%
- c) 40-60%
- d) 60-80%
- e) 80-100%

29) Você acha que o carrapato pode aumentar a mortalidade dos bezerros?

- a) Sim
- b) Não
- c) Por que?

30) Você acha que o carrapato pode provocar o aumento da mortalidade dos animais adultos?

- a) Sim
 - b) Não
 - c) Por que?
-

31) O carrapato pode provocar alguma doença no gado?

- a) Sim
 - b) Não
 - c) Quais doenças podem aumentar por causa do carrapato?
-

a) Por que?

PERCEPÇÃO DO PROPRIETÁRIO SOBRE TPB

32) Seus animais têm problema de Tristeza Parasitária Bovina?

- a) Sim
- b) Não
- c) Em quais categorias?
 - i) Bezerros
 - ii) Novilhos
 - iii) Adultos

33) Faz ou já fez diagnóstico?

- a) Não
- b) Sim

34) Se sim, qual?

- a) Mucosa esbranquiçada ou amarelada
- b) Esfregaço sanguíneo
- c) PCR
- d) Sorologia

5) Qual agente diagnosticado?

- a) *Babesia* sp.
 - b) *B. bovis*
 - c) *B. bigemina*
 - d) *Anaplasma marginale*
 - e) Outros. Quais?
-

PERCEPÇÃO DO PROPRIETÁRIO SOBRE O CARRAPATO E A SUA IMPORTÂNCIA:

35) Como é que está a situação aqui na fazenda, tem aparecido carrapato?

- a) () sim
- b) () não
- c) () muito
- d) () demais

Comentários

36) Acha que tem mais de um tipo de carrapato nos animais?

- a) () sim
- b) () não

Comentários

37) Quantos carrapatos em média, daquelas já grandes, que você encontra por animal na época em que tem mais carrapato?

- a) < que 10 carrapatos/ animal
- b) 10 a 50 carrapatos/ animal
- c) > que 50 carrapatos/ animal

38) Quantos carrapatos adultos você acha que um animal aguenta por dia sem perder a saúde?

- a) 100
- b) 300
- c) > 300
- d) <100

39) Em qual categoria você percebe uma maior carga parasitária?

- a) Bezerros (as) de 0-12 meses
- b) Novilhos (as) de 12-24 meses
- c) Animais adultos

40) Em quais desses lugares você percebe que dá mais carrapatos?

- | | |
|--------------------|------------|
| a) cabeça | f) úbere |
| b) barriga /axilas | g) cauda |
| c) períneo | h) dorso |
| d) pescoço | i) membros |
| e) orelhas | j) não sei |

MÉTODOS DE CONTROLE DO CARRAPATO

- 41) Costuma fazer algum tipo de tratamento/medida de controle para carrapatos?
- Pulverização
 - Pour-on*
 - Injetável
 - Rotação de pastagem
 - Homeopático (uso de plantas)
 - Não faz
- 42) Se sim, quais as bases dos medicamentos já utilizados? Pode falar nome comercial, incluindo vermífugos.
- _____
- _____
- _____
- 43) Se sim para HOMEOPATIA, quais produtos utilizaram?
- _____
- _____
- _____
- 44) Você sabe o que é um teste carrapaticida?
- Sim
 - Não
- 45) Costuma fazer biocarrapaticidograma periodicamente?
- Sim
 - Não
- 46) Com qual intervalo você faz o controle?
- 15 dias
 - 21 dias
 - 30 dias
 - 90 dias
 - 120 dias
- 47) Todos os animais são tratados juntos ou apenas os que tem mais carrapatos?
- Todos juntos

- Apenas os com maior carga parasitária

MÉTODOS DE CONTROLE DE PIOLHOS

- 48) Você já observou a presença de piolhos nos búfalos?
- Sim
 - Não
- 49) E em qual categoria?
- 0-12 meses
 - 12-24 meses
 - >24 meses
- 50) Há quanto tempo foi observado?
- Um mês
 - Mais de 3 meses
 - Mais de 6 meses
- 51) Se sim, já efetuou algum tratamento?
- Sim
 - Não
 - Se sim, com qual produto ativo?
- _____