

T 636.089 69

V6582

2002



Maria Isabel Botelho Vieira

RESPOSTA IMUNE HUMORAL CONTRA *Babesia bovis* (Babés, 1888), *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) E *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910) EM BOVINOS SUBMETIDOS A DISTINTOS MÉTODOS DE CONTROLE DO CARRAPATO *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) NA REGIÃO DE BAGÉ, RS.

Tese apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola da Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva e Epidemiologia.

Orientador: Prof. Dr. Romário Cerqueira Leite

Belo Horizonte
UFMG – Escola de Veterinária
2002.

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA

20/01/03

102803-11

V658r Vieira, Maria Isabel Botelho, 1961-
2002 Resposta imune humoral contra *Babesia bovis* (Babés, 1888), *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) e *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910) em bovinos submetidos a distintos métodos de controle do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) na região de Bagé, RS / Maria Isabel Botelho Vieira. – Belo Horizonte: UFMG-Escola de Veterinária, 2002.

83p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

1. Bovino – Doenças – Teses. 2. Carrapato como transmissor de doenças – Teses. 3. Carrapato – Controle – Teses. 4. Resposta imune – Teses. I. Título.

CDD – 636.208 969 68

0342-03060

Tese defendida em 29 de agosto de 2002 e aprovada pela comissão examinadora constituída pelos professores:



A large, stylized handwritten signature in black ink, written over a horizontal line.

Prof. Dr. Romário Cerqueira Leite

A small, stylized handwritten signature in black ink, written over a horizontal line.

Dr. John Furlong

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line.

Prof. Dra. Lygia Maria Friche Passos

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line.

Prof. Dr. Múcio Flávio Barbosa Ribeiro

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line.

Prof. Dr. João Gilberto Correa da Silva

DEDICATÓRIA.

À minha família, nas pessoas dos meus queridos e amados pais, Alúcio e Yara Maria, que me deram a graça de aprender a valorizar os verdadeiros sentimentos, de amor, união, harmonia, o meu singelo muito obrigada!

A sabedoria, paciência, amizade, fé, equilíbrio são, sem dúvida, valores que me foram passados por alguém fundamental nesta minha trajetória de vida, a qual desejo aqui externar minha profunda admiração e amor, minha vó Yara!

Aos meus irmãos e respectivas famílias, tenham a certeza de que a amizade e a união que sempre cultivamos é uma verdadeira dádiva de DEUS!

“Vinde ouvir, vós todos que temeis a Deus, pois vou contar o que Ele fez por mim.
Invoquei-o com a boca, louvei-o com a língua.
Se eu tivesse más intenções, o Senhor não teria me escutado;
mas Deus me escutou e atendeu ao clamor de minha súplica.

Bendito seja Deus, que não rejeitou minha súplica nem me privou de sua graça!”

Dedico esta tese, a todas as pessoas que, ao longo desta caminhada, fizeram parte desta "família" que fui construindo e que, por isto, são chamados carinhosamente de "amigos", a vocês, o meu eterno agradecimento!

*Pede ser que um dia deixemos de nos falar...
Mas, enquanto houver amizade,
Faremos as pazes de novo.*

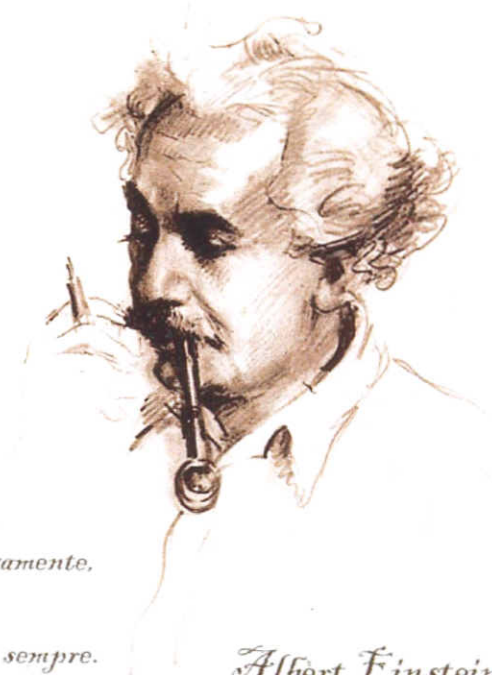
*Pede ser que um dia o tempo passe...
Mas, se a amizade permanecer,
Um de entre há de se lembrar.*

*Pede ser que um dia nos afastemos...
Mas, se formos amigos de verdade,
A amizade nos reaproximará.*

*Pede ser que um dia não mais existamos...
Mas, se ainda se brar amizade,
Nasceremos de novo, um para o outro.*

*Pede ser que um dia tudo acabe...
Mas, com a amizade construiremos tudo novamente,
Cada vez de forma diferente,
Sendo único e inesquecível cada momento
Que juntos viveremos e nos lembraremos pra sempre.*

*Há duas formas para viver sua vida:
Uma é acreditar que não existe milagre.
A outra é acreditar que todas as coisas são um milagre.*



MisaGruber

Albert Einstein
1879 • 1955

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Pesquisa Pecuária Sul – EMBRAPA, nas pessoas dos seus chefes, Dr. Eduardo Salomoni e Roberto Collares e à Pesquisadora Ana Maria Sacco por viabilizarem a execução deste projeto.

Ao amigo e orientador Professor Romário Cerqueira Leite, com a certeza de que a total confiança em mim depositada foi fundamental para meu crescimento profissional o que resultou no trabalho que ora apresento.

Ao Professor João Sezer Jardim de Quadros e Marcos Blotta da Fonseca, ex-Diretor e ex-Coordenador do Centro de Ciências Rurais e do curso de Medicina Veterinária da URCAMP, respectivamente, por terem facilitado minha licença para a realização deste curso de Doutorado.

Ao Professor Evaldo Soares Rodrigues, Pró-Reitor de Pós-Graduação Pesquisa e Extensão da URCAMP pelo total apoio na realização deste curso.

Aos professores Derli Siqueira e José Carlos Lucena da Rosa, Diretor do CCR e Coordenador do Curso de Medicina Veterinária da URCAMP, pela força e confiança em mim depositadas.

Aos meus alunos do Curso de Medicina Veterinária da URCAMP pela compreensão em aceitar que durante a realização do curso de Doutorado as disciplinas fossem realizadas intensivamente, de forma a facilitar a realização do mesmo, o meu especial obrigada!

Aos amigos e colegas Francisco de Paula Jardim Alves Branco e Maria de Fátima Sapper, saibam que as palavras de estímulo, confiança e amizade sempre foram muito importantes, e, como dádivas, recebidas.

Ao colega e amigo John Furlong pela participação quando da elaboração deste projeto, que, com sua sabedoria, nos orientou no melhor planejamento do mesmo.

Ao colega e amigo João Ricardo Souza Martins pela paciência, compreensão, amizade e, acima de tudo, por mostrar com sua humildade, ensinamentos valiosos que muito contribuíram para a construção deste trabalho.

A Professora Celina, meu especial agradecimento pelos conhecimentos adquiridos durante as disciplinas de Epidemiologia e Zoonoses e também pela orientação recebida durante a qualificação, pois suas palavras de atenção e amizade muito me ajudaram nos momentos difíceis.

Ao professor Élvio, o meu muito obrigada pela sua atenção desde minha chegada neste curso, e também pela sua disponibilidade em sempre ajudar quando precisávamos.

Aos professores do Curso de Doutorado em Ciência Animal, funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e do Curso de Pós-Graduação da UFMG.

Ao professor João Gilberto Corrêa da Silva, pelo belíssimo trabalho desenvolvido nas análises estatísticas, que através da sua simplicidade e profundo conhecimento me fez compreender melhor as interpretações dos resultados deste trabalho.

A prima e amiga Ana Rita Mazzini, pelo auxílio na composição do banco de dados para as avaliações estatísticas e ao amigo Hero Alfaya, pelas sugestões durante o mesmo.

Um especial agradecimento a uma pessoa que me recebeu na sua casa em um momento extremamente difícil da minha vida, e que, com sua simplicidade, confiança e carinho mostrou que a vida realmente vale a pena pelos amigos que fazemos, e hoje, com certeza, posso considerar uma verdadeira e grande amiga, Margareti.

Kiki, uma outra grande amiga, sempre gentil, solícita, tendo sido a primeira pessoa a me acolher aqui quando cheguei, o meu reconhecimento e minha amizade com certeza sempre terá!

Kelly, amiga de todas as horas, tua amizade e força nas horas difíceis foram incentivo para alcançar meus objetivos, muito obrigada!

Amiga Lú, grande pessoa, dinâmica, prestativa, estás também dentro dessa família que construí aqui em Belo Horizonte.

À Nádia, um especial agradecimento pela ajuda fornecida quando da confecção da tese.

À Clara, pela sua palavras de força e amizade.

Aos professores José Oswaldo, Paulinho, Lygia, Andrey, Zélia e João Paulo pela atenção recebida durante o curso.

Ao colega Cláudio Roberto Madruga pela sua disponibilidade em auxiliar na realização dos exames sorológicos, o que, de coração, agradeço profundamente, com o reconhecimento de que o seu rigor científico e sabedoria contribuíram para cada vez mais entender o valor da verdadeira "Ciência"!

Ao colega Raul Henrique Kessler que através da sua experiência forneceu subsídios fundamentais para esta tese.

A equipe do Laboratório de Imunoparasitologia do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, Embrapa, nas pessoas de Midori Miguita, Robson, estagiários, o meu muito obrigada!

Por fim, para todos aqueles que colocaram um pouco de atenção, carinho, amor nesta longa e árdua caminhada, o meu muito obrigada, e que Deus lhes abençoe sempre!

SUMÁRIO

	RESUMO	15
	SUMMARY	16
	CAPÍTULO I	17
1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	18
3	REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1.	CARRAPATO DOS BOVINOS <i>Boophilus microplus</i>	19
3.1.1.	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E FATORES EPIZOOTIOLÓGICOS DO CARRAPATO DOS BOVINOS <i>B. microplus</i>	19
3.1.2.	MÉTODOS DE CONTROLE UTILIZADOS PARA O CARRAPATO DOS BOVINOS <i>B. microplus</i>	20
3.2.	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E FATORES EPIDEMIOLÓGICOS DA TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA (TPB) CAUSADA PELOS AGENTES <i>Anaplasma marginale</i> , <i>Babesia bovis</i> E <i>Babesia bigemina</i>	25
3.2.1.	ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS DOS AGENTES DA TPB REALIZADOS EM ALGUMAS REGIÕES DO BRASIL	29
3.3.	RESPOSTAS IMUNES AOS AGENTES DA TPB	31
3.4.	IMUNODIAGNÓSTICO DOS AGENTES <i>A. marginale</i> , <i>B. bovis</i> E <i>B.</i> <i>bigemina</i>	32
	CAPÍTULO II	35
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1.	LOCAL DO EXPERIMENTO	35
4.2.	ÁREA EXPERIMENTAL	35
4.3.	ANIMAIS EXPERIMENTAIS	35
4.5.	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	35
4.5.1.	PERÍODO DE DESAFIO COM LARVAS DE CARRAPATO <i>B. microplus</i> ..	36
4.6.	REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA	36
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
	CAPÍTULO III	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1.	GRUPO CONTROLE ESTRATÉGICO INTEGRADO X AGENTES DA TPB	38
5.2.	GRUPO ANTÍGENO rBm 86 MAIS TRATAMENTOS TÁTICOS CARRAPATICIDAS X AGENTES DA TPB	40
5.3.	GRUPO IVERMECTINA 3,15% X AGENTES DA TPB	41
5.4.	GRUPO CONVENCIONAL X AGENTES DA TPB	43
5.5.	GRUPO SUPRESSIVO X AGENTES DA TPB	45
5.6.	RESULTADOS DAS REAÇÕES CLÍNICAS PÓS-DESAFIO NOS DIFERENTES GRUPOS AVALIADOS	46
5.6.1.	PARASITEMIA	46
5.6.2.	TEMPERATURA CORPORAL	46
5.6.3.	VOLUME GLOBULAR	47
	CAPÍTULO IV	48
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
7	REFERÊNCIAS BIBLIGRÁFICAS	51
8	ANEXOS	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>A. marginale</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de novembro de 1999, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	63
Tabela 2	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>A. marginale</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de janeiro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	63
Tabela 3	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>A. marginale</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de março de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	64
Tabela 4	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>A. marginale</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de maio de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	64
Tabela 5	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>A. marginale</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de julho de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	65
Tabela 6	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>A. marginale</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de setembro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	65
Tabela 7	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bovis</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de novembro de 1999, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	66
Tabela 8	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bovis</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de janeiro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	66
Tabela 9	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bovis</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de março de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	67
Tabela 10	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bovis</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de maio de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	67
Tabela 11	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bovis</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de julho de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	68
Tabela 12	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bovis</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de setembro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	68

Tabela 13	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bigemina</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de novembro de 1999, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	69
Tabela 14	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bigemina</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de janeiro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	69
Tabela 15	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bigemina</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de março de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	70
Tabela 16	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bigemina</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de maio de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	70
Tabela 17	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bigemina</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de julho de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	71
Tabela 18	Percentual de animais com anticorpos anti- <i>B. bigemina</i> (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato <i>B. microplus</i> para o mês de setembro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.....	71
Tabela 19	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>A. marginale</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento estratégico integrado para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	72
Tabela 20	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>A. marginale</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	72
Tabela 21	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>A. marginale</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com ivermectina 3,15% para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	73
Tabela 22	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>A. marginale</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento convencional para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	73
Tabela 23	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>A. marginale</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento supressivo para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	74
Tabela 24	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bovis</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento estratégico integrado para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	74

Tabela 25	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bovis</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS	75
Tabela 26	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bovis</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com ivermectina 3,15% para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	75
Tabela 27	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bovis</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento convencional para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	76
Tabela 28	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bovis</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento supressivo para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	76
Tabela 29	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bigemina</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento estratégico integrado para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	77
Tabela 30	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bigemina</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS	77
Tabela 31	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bigemina</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com ivermectina 3,15% para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	78
Tabela 32	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bigemina</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento convencional para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	78
Tabela 33	Resposta imune humoral (IgG) anti- <i>B. bigemina</i> através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento supressivo para o controle do carrapato <i>B. microplus</i> , no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.....	79
Tabela 34	Percentual de parasitemias para <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i> e presença de <i>A. marginale</i> diagnosticados no período do desafio no grupo controle estratégico integrado.....	79
Tabela 35	Percentual de parasitemias para <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i> e presença de <i>A. marginale</i> diagnosticados no período do desafio no grupo tratado com o antígeno rBm86 mais tratamentos táticos carrapaticidas	80
Tabela 36	Percentual de parasitemias para <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i> e presença de <i>A. marginale</i> diagnosticados no período do desafio no grupo tratado com ivermectina 3,15%.....	81
Tabela 37	Percentual de parasitemias para <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i> e presença de <i>A. marginale</i> diagnosticados no período do desafio no grupo tratado com o controle convencional.....	82
Tabela 38	Percentual de parasitemias para <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i> e presença de <i>A. marginale</i> diagnosticados no período do desafio no grupo supressivo.....	83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Relação entre número de carrapatos <i>B. microplus</i> do grupo tratado com o controle estratégico integrado e percentual de soros positivos para <i>A. marginale</i> , <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i>	40
Figura 2	Relação entre número de carrapatos <i>B. microplus</i> do grupo tratado com antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas e percentual de soros positivos para <i>A. marginale</i> , <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i>	41
Figura 3	Relação entre número de carrapatos <i>B. microplus</i> do grupo tratado com ivermectin 3,15% e percentual de soros positivos para <i>A. marginale</i> , <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i>	43
Figura 4	Relação entre número de carrapatos <i>B. microplus</i> do grupo tratado com o tratamento convencional e percentual de soros positivos para <i>A. marginale</i> , <i>B. bovis</i> e <i>B. bigemina</i>	44
Figura 5	Relação entre o número de carrapatos <i>B. microplus</i> do grupo supressivo e percentual de soros positivos para <i>A. marginale</i> , <i>B. bovis</i> , <i>B. bigemina</i>	45
Figura 6	Médias de temperatura corporal dos animais submetidos ao desafio com larvas de carrapato <i>B. microplus</i> infectadas com <i>Babesia</i> spp.	46
Figura 7	Médias do volume globular dos animais submetidos ao desafio com larvas de carrapato <i>B. microplus</i> infectadas com <i>Babesia</i> spp.	47

RESUMO

No sistema atual de produção pecuária do Estado do Rio Grande do Sul, as parasitoses constituem-se indiscutivelmente num dos maiores entraves de ordem econômico-sanitário, especialmente, o carrapato *Boophilus microplus* e as doenças transmitidas, como os hemoprotozoários *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e a rickettsia *Anaplasma marginale*, que também pode ser transmitida por outros vetores biológicos e mecânicos. Esse trabalho teve como objetivo esclarecer a dinâmica da resposta imune humoral desses agentes em bovinos submetidos a distintos métodos de controle do carrapato *B. microplus*, na região de Bagé, RS, Brasil. Trabalhou-se com fêmeas Aberdeen Angus entre 10 a 12 meses de idade, divididas em cinco grupos experimentais. O grupo um foi tratado com o controle estratégico integrado medicado com doramectina, mais inóculo com cepas atenuadas de *Anaplasma centrale*, *B. bovis* e *B. bigemina* e tratamentos antiparasitários; o grupo dois foi tratado com o antígeno rBm 86 associado a tratamentos táticos com amitraz; grupo três medicado com ivermectina 3,15%; grupo quatro, denominado de "convencional", onde se usou banhos com amitraz e o grupo cinco chamado de "supressivo", com tratamentos a cada duas semanas com amitraz. A contagem de carrapatos foi feita a cada 14 dias e a sorologia foi realizada a cada dois meses através da reação de Imunofluorescência Indireta para detecção de anticorpos da classe IgG. Ao final do experimento, os animais foram desafiados com larvas de carrapato *B. microplus*. Após o desafio, apenas o grupo supressivo apresentou 71,4% dos animais com casos clínicos de babesiose. Os resultados indicaram que os métodos de controle usados não interferiram na estabilidade enzoótica para a anaplasmose, enquanto que a situação de estabilidade enzoótica da babesiose causada pela *B. bovis* somente foi obtida nos grupos antígeno rBm 86 e convencional e para *B. bigemina* essa situação foi observada apenas nos animais do grupo convencional.

Palavras chaves: *Boophilus microplus*, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale*, reação de imunofluorescência indireta, estabilidade e instabilidade enzoótica.

SUMMARY

In the animal production system currently used in the State of Rio Grande do Sul the parasitic diseases are certainly one of the major sanitary and economical constraints, particularly due to the cattle tick *Boophilus microplus* and to tick-borne pathogens, such as the protozoans *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*, and the rickettsia *Anaplasma marginale*, that can also be transmitted by other mechanical vectors. This work had the objective of determining the dynamics of the humoral immune response against these agents in cattle under distinct methods to control *B. microplus* ticks in the region of Bagé, RS, Brazil. Aberdeen Angus females, with ages between 10 to 12 months, were divided into five experimental groups. Animals in group one were treated according to an integrated control program using doramectin, inoculation of attenuated strains of *Anaplasma centrale*, *B. bovis* and *B. bigemina*, and anti-parasitic treatments; animals in group two were treated with the rBm 86 antigen associated to tactive treatments with amitraz; animals in group three were treated with ivermectin (3.15%); animals in group four, so called 'conventional control' were treated with amitraz, and animals in group five, so called 'suppressiv' were treated every two weeks with amitraz. Tick counts were carried out every 14 days and serology, by the indirect fluorescent antibody test (IFAT), was carried out every two months for detection of IgG antibodies. At the end of the experimental period, the animals were challenged with *B. microplus* larvae. Only the suppressive group had clinical cases of babesiosis in 71.4% of the animals. The results indicate that the control methods did not interfere with the enzootic stability for anaplasmosis, while stability for *B. bovis* was only observed in animals in groups rBm 86 antigen and conventional treatment, and stability for *B. bigemina* was only observed in animals under the conventional treatment.

Key words: *Boophilus microplus*, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale*, Indirect Fluorescent Antibody Test, enzootic stability and instability.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O Rio Grande do Sul, especialmente a Região da Campanha, tem na atividade agropecuária sua principal fonte econômica, e a bovinocultura do estado conta atualmente com 13.504.528 milhões de cabeças (Machado, 2002).

A pecuária gaúcha, privilegiada pelas condições naturais das pastagens e pela genética de seus rebanhos, garantiu uma produção qualificada com destaque em todo o país, passando a exportar sua genética para outros estados da federação. Atualmente, esse setor produtivo encontra-se em fase de transição, buscando melhorar seu desempenho para tornar-se competitivo nos mercados internacionais. Além de comprar qualidade, os mercados mundiais, influenciados pela também globalização das doenças dos rebanhos, começaram a exigir um certificado de origem, que se chama rastreabilidade. Após o pânico mundial da Vaca Louca e da Aftosa, saber a origem da carne passou a ser prioridade para os países importadores. Desta forma, o estado do RS prepara-se para participar deste seletivo grupo que tem remuneração diferenciada pela qualidade da carne produzida. Portanto, o incremento da indústria bovina está na dependência de alguns fatores, entre eles, citam-se os aspectos nutricionais, sanitários, manejo e melhoramento genético do rebanho.

É importante ressaltar que as diferenças climáticas ocasionam modificações nas condições epizootológicas dentro de uma mesma região fisiográfica, interferindo na condição alimentar, e, também, na dinâmica populacional dos parasitos. Em alguma regiões onde os efeitos adversos das condições climáticas interferem no crescimento das pastagens naturais, busque-se, através de tecnologias disponíveis, alternativas que visem solucionar a situação nutricional do rebanho, tais como implantação de pastagens mais produtivas, uso de forragens conservadas, como a silagem e o feno, e a suplementação

alimentar pelo menos nos períodos mais críticos, que são, no caso da região sul do Brasil, os períodos de inverno.

No sistema atual de produção pecuária, as parasitoses constituem-se, indiscutivelmente, num dos maiores problemas de ordem econômico – sanitário, especialmente o carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) e os agentes transmitidos, como os hemoprotozoários *Babesia bovis* (Babes, 1888) e *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893). A anaplasmose é outra importante doença dos bovinos que tem como agente etiológico a rickettsia *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910) que, juntamente com os hemoprotozoários acima citados, formam o complexo parasitário denominado de Tristeza Parasitária Bovina (TPB).

Com relação aos meios e mecanismos de transmissão dessa rickettsia existem controvérsias quanto à real importância epidemiológica desse carrapato ixodídeo, uma vez que a transmissão transovariana não ocorre normalmente, conforme já comprovado por diversos autores. Os insetos hematófagos, principalmente os tabanídeos também estão envolvidos na transmissão desse agente, o que torna a epidemiologia bastante complexa, sendo, portanto, necessárias novas investigações que esclareçam quais vetores apresentam importância significativa na epizootologia da anaplasmose bovina.

O carrapato *B. microplus* juntamente com a TPB constituem um ponto de estrangulamento ao desenvolvimento do setor pecuário gaúcho, em função dos inúmeros prejuízos, como a diminuição no ganho de peso, índices de morbidade e mortalidade, gastos com medidas terapêuticas e profiláticas, prejuízos na qualidade do couro, bem como dificuldade na comercialização dos animais.

As recomendações para um programa de controle do carrapato *B. microplus* devem ser fundamentadas num profundo conhecimento epidemiológico, econômico e social, enfocando a aplicabilidade local ou

regional das tecnológicas disponíveis. As informações do potencial biótico desse carrapato em uma área específica são determinantes para a aplicação de medidas factíveis, pois é sabido que os programas de luta contra o carrapato devem ser projetados a médio e longo prazo, já que os mesmos ficam na dependência das constantes trocas sócio-econômicas dos países em desenvolvimento.

O controle do carrapato na fase de vida parasitária vem sendo realizado através do uso de produtos químicos, como os arsenicais, clorados, fosforados, amidinas, piretróides, e mais recentemente, pelo uso de drogas endectocidas do grupo das avermectinas, o fluazuron e fipronil. O uso contínuo desses fármacos, muitas vezes sem um correto planejamento, tem trazido conseqüências desastrosas para o controle dos parasitos, como a seleção de cepas resistentes às mais diversas bases químicas, até mesmo com relatos de resistência cruzada entre esses grupos.

No Brasil, no sistema atual de exploração pecuária, o controle das parasitoses tem sido efetuado de forma isolada, ocasionando, com isto, um aumento nos custos de tratamento e mão-de-obra. Por exemplo, no estado do RS, o controle do carrapato *B. microplus* vem sendo efetuado sem um adequado planejamento, uma vez que o problema de resistência aos fármacos se estabeleceu em diversas bases químicas, inviabilizando em muitas situações um controle mais criterioso. Diante desse panorama, o controle desse carrapato em algumas propriedades passou a ser feito através do uso de endectocidas de longo poder residual, acarretando muitas vezes uma redução indiscriminada das populações de carrapato, aumentando significativamente os riscos de TPB, em decorrência de menores taxas de inoculação de *Babesia* spp., rompendo, assim, a pretensa estabilidade enzoótica dos animais.

Desta forma, entende-se que o controle do carrapato *B. microplus*, deve preservar ou manter a estabilidade enzoótica para as babesioses através da exposição natural ao

vetor, ou, se necessário, através de programas de imunização, seja pela aplicação de vacinas vivas atenuadas, ou através da pré-munição dos animais susceptíveis.

Considerando-se as possibilidades de que a utilização de diferentes regimes de controle do carrapato *B. microplus* possam influenciar a transmissão dos agentes da TPB, algumas importantes questões devem ser levantadas, tais como:

- 1) Qual o efeito das diferentes estratégias de controle do carrapato *B. microplus* na manutenção dessa estabilidade?
- 2) Baseado nos resultados obtidos poderá ser necessário a indicação de medidas profiláticas contra os agentes da TPB?

O presente trabalho teve como objetivo a busca de respostas para estas questões fundamentais, que visa esclarecer a dinâmica da resposta imune humoral contra os agentes *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* em bovinos submetidos a distintas estratégias de controle do carrapato *B. microplus* na região de Bagé, RS.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Avaliar a resposta imune humoral contra *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* em bovinos submetidos a distintos métodos de controle do carrapato *B. microplus*.

2.2. ESPECÍFICOS

Estudar a associação entre presença de anticorpos da classe IgG anti *A. marginale* e intensidade de infestação do carrapato *B. microplus*.

Observar a associação entre presença de anticorpos da classe IgG anti *B. bovis* entre diferentes graus de infestações do carrapato *B. microplus*.

Determinar a associação entre presença de anticorpos da classe IgG anti *B. bigemina*

entre diferentes graus de infestações do carrapato *B. microplus*.

Avaliar a resposta clínica dos animais frente ao desafio por estirpes de carrapato *B. microplus*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. CARRAPATO DOS BOVINOS *B. microplus*

3.1.1. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E FATORES EPIZOOTIOLÓGICOS DO CARRAPATO DOS BOVINOS *B. microplus*

O carrapato *B. microplus* é o mais importante ectoparasito de bovinos nas regiões tropicais e subtropicais do mundo entre os paralelos 32° Norte e 32° Sul, sendo transmissor dos hemoprotozoários *B. bovis* e *B. bigemina*. Aproximadamente 80% da população bovina mundial está exposta aos danos provocados pelos carrapatos e pelas enfermidades que transmitem, sendo um dos maiores entraves ao desenvolvimento da indústria de carne e leite bem como induz a elevados gastos com medidas de controle (Hitchcock, 1954; Sutherst et al., 1983b; Pegram et al., 1993).

O Brasil é um país, com características climáticas que favorecem o desenvolvimento e a sobrevivência do *B. microplus* na maioria dos meses do ano (Evans, 1992). Na região Sul, o carrapato encontra-se amplamente difundido, mesmo havendo uma geração a menos em comparação com a região Sudeste, havendo até mesmo relato de ocorrência de *B. microplus* na microrregião de Santa Vitória do Palmar, zona até então considerada livre deste parasito (Gonzales, 1992). Em países como o Uruguai e na região Sul do Brasil, onde os invernos ocorrem com temperaturas baixas, observa-se uma diminuição do ciclo de vida livre deste carrapato, sem, no entanto, haver a interrupção das infestações (Cardozo et al., 1984).

As condições do meio ambiente, incluindo, temperatura, umidade, tipo de solo, etc,

exercem interferência direta nas infestações do carrapato *B. microplus* e, conseqüentemente, no nível de infecção dos carrapatos e dos bovinos com os agentes *B. bovis* e *B. bigemina* (Guglielmone, 1995). Em algumas regiões da Argentina, as condições climáticas permitem o desenvolvimento de três gerações de carrapato *B. microplus* (Ivancovich et al., 1984), no entanto, importantes diferenças no número de carrapatos foram observadas entre as propriedades analisadas, aparentemente como conseqüência dos diferentes sistemas de manejo empregados (De Rios et al., 1989; Späth, 1986).

Alves Branco et al. (1987) realizaram um experimento com animais das raças Hereford e Ibañe durante o período de 1980 a 1983 onde concluíram que, na região de Bagé, RS ocorriam três picos distintos de infestação pelo carrapato *B. microplus*, sendo o primeiro discreto, ocorrendo basicamente nos meses de novembro e dezembro, o segundo ocorria no mês de fevereiro e o grau máximo de infestação ocorria no outono, principalmente nos meses de abril e maio, possivelmente correspondendo a 1ª, 2ª e 3ª geração de carrapato, respectivamente, o que permitiu determinar o modelo populacional para essa região.

A maior infestação de carrapatos no outono, deve-se à capacidade de postura de fêmeas que ingurgitaram durante a primavera e final de verão, sendo responsáveis pela maior geração observada nesse período do ano (Brizuela et al., 1996). Esta é uma importante observação epidemiológica, pois alguns trabalhos demonstraram que novilhos das raças *Bos taurus* e *Bos indicus* sofreram substanciais perdas no outono e inverno devido às altas infestações nessas estações do ano (Sutherst et al., 1983a).

Em trabalhos conduzidos no Paraguai, observaram-se de três a quatro gerações carrapato/ano, dependendo principalmente da média da temperatura de inverno e também da média anual. Também foi observado que a capacidade de postura das fêmeas e eclodibilidade foram afetadas em

períodos frios, porém a maioria sobreviveu a esses períodos, eclodindo na primavera, produzindo o fenômeno do "spring rise" (Brizuela et al., 1996).

No Brasil, os prejuízos causados por essa espécie de carrapato foram estimados em um bilhão de dólares por ano, sendo 40% por perdas na produção de leite, 27% pela mortalidade, 11% sobre o desempenho reprodutivo, 9% em gastos com acaricidas, 5% pela redução no ganho de peso, 5% em juros bancários, 3% pela má qualidade do couro e outros gastos como as medidas preventivas para as hemoparasitoses (Horn, 1987). Esse problema parasitário tem sido exacerbado no estado do RS devido à tradição local do uso de raças de origem européia (Evans et al., 2000), sendo que as perdas econômicas foram calculadas em torno de US\$ 130 milhões/ano (Horn & Artheche, 1985). Em função do crescimento do rebanho bovino de 76 milhões de cabeças em 1983 para 169 milhões em 2000, estas perdas poderiam ultrapassar os 2 bilhões de dólares (Grisi et al., 2002).

A diversidade climática e geográfica da América do Sul, bem como o desenvolvimento sócio-econômico tem permitido um crescimento da população bovina em diferentes sistemas de produção, os quais tem procurado adaptar o controle do carrapato *B. microplus* e da TPB. Esta situação pode ser observada no Brasil, onde fatores como endemicidade, raças susceptíveis ao carrapato *B. microplus* e densidade de infestação devido às condições climáticas estão intimamente relacionadas à transmissão dos agentes *B. bovis* e *B. bigemina* (Nari, 1995).

3.1.2. MÉTODOS DE CONTROLE UTILIZADOS PARA O CARRAPATO DOS BOVINOS *B. microplus*.

O uso do termo "controle" em relação às doenças animais é a combinação de medidas que têm por objetivo minimizar os prejuízos causados pelos agentes patogênicos através de tratamentos e de medidas preventivas (Mahoney, 1974). Para se realizar o controle do carrapato dos bovinos, torna-se fundamental que se

reconheça o parasito como "um ser participante de um sistema ecológico". Há, portanto, a necessidade de se identificar, valorizar e utilizar os diferentes fatores que compõem o ecossistema do carrapato, como clima, vegetação, localização geográfica, predadores, parasitos, raças bovinas, carrapaticidas e manejo animal (Gonzales, 1988).

O controle dos parasitos tem como propósito uma redução do potencial biótico dos mesmos, a um nível compatível com a produtividade econômica dos hospedeiros. Desta forma, o controle parasitológico visa diminuir ou eliminar os prejuízos dos parasitos, através de práticas econômicas e viáveis (Gordon, 1967).

A adoção de estratégias de controle é sempre influenciada por hábitos e costumes tradicionais, bem como pelo nível educacional dos produtores e pelos benefícios econômicos de tais tecnologias (Riesgo, 1992).

Os métodos tradicionais de controle do carrapato *B. microplus* incluem basicamente o uso de drogas químicas com resultados parcialmente duvidosos, apresentando como desvantagens o acúmulo de resíduos nos alimentos, no meio ambiente e o desenvolvimento de cepas resistentes a esses compostos. A utilização de métodos de controle que não se baseiam no uso de acaricidas, utilizando predadores, feromônios, manejo das pastagens, dentre outros métodos, tem tido uma aplicação muito limitada (Wikel, 1988; Kay & Kemp, 1994).

Alternativas como o uso do controle biológico, usando principalmente fungos entomopatogênicos, como a *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* têm sido investigadas (Monteiro et al., 1998 a e b; Correia et al., 1998). Mais recentemente, Frazzon et al. (2000) demonstraram que o controle biológico do carrapato *B. microplus* através do fungo *M. anisopliae* é factível, podendo ser adicionado aos métodos integrados de controle desse ectoparasito.

Métodos de controle ou erradicação do carrapato *B. microplus* têm sido avaliados desde o início do século, entretanto, a utilização destas tecnologias não têm sido uniforme em todos os países (Nari, 1992). Na Colômbia, tem sido reportado que 59% dos produtores utilizam controle a intervalos de 6 a 20 dias durante o verão, preferencialmente usando pulverizadores (88%), muitos dos quais não usam a concentração adequada do carrapaticida (Betancourt, 1987). Tais condições são comuns em muitos países da América do Sul, e muitos desses têm acesso às informações de bioecologia do *B. microplus*, mas não utilizam essas informações no planejamento de medidas estratégicas de controle, trazendo, como conseqüência, sérios problemas no controle integrado do complexo carrapato/TPB (Nari, 1990).

A aplicação estratégica de acaricidas deve atingir as gerações iniciais dos carrapatos evitando a multiplicação e disseminação dessas populações nas estações mais favoráveis. No estado do RS, usualmente esse período se inicia na metade da primavera (Alves Branco et al., 1989; Martins et al., 1995).

Os produtos carrapaticidas são aplicados através de diferentes formulações, sendo que os mesmos são classificados em famílias ou grupos químicos, havendo atualmente pelo menos seis grandes grupos: fosforados, piretroides, amidínicos, avermectinas, fluazuron e fipronil. Ao longo do tempo, com o surgimento de novos grupos e o desaparecimento de outros (arsenicais e clorados) os mesmos podem ser agrupados de acordo com o modo de ação em carrapaticidas "de contato" ou "sistêmicos" (Furlong & Martins, 2000).

Os tratamentos carrapaticidas usados rotineiramente pelos produtores constituem uma prática que tem como objetivo o controle dos carrapatos nos bovinos, o que, na maioria das vezes, não soluciona o problema, já que apenas uma fase do ciclo biológico é atingida, não ocorrendo simultaneamente um controle das larvas nas pastagens (Furlong & Martins, 2000). Exemplifica-se essa situação em algumas

regiões do RS onde os bovinos são tratados quando o nível de infestação excede os níveis considerados aceitáveis pelos produtores. Portanto, o uso dos tratamentos carrapaticidas após a visualização das teleóginas adultas, chamado de tratamento "convencional", traz inúmeros prejuízos aos produtores, pois o número de banhos carrapaticidas tende a ser muito elevado, variando com o método de aplicação, época do ano, raça do animal e custo do tratamento (Magalhães & Lima, 1991).

O nível de estabilidade enzoótica para *B. bigemina* e *B. bovis* nos rebanhos comerciais com relação aos banhos estratégicos e a carga de carrapatos têm sido investigado por diversos autores (Tice et al., 1998). Ardington (1982) encontrou que os banhos estratégicos resultaram em leves infestações de *Boophilus decoloratus* (Koch, 1844) mas falharam em manter a estabilidade enzoótica para *B. bigemina*. Em um levantamento feito nas ilhas Natal, De Vos & Every (1981) notaram que a instabilidade enzoótica para a *B. bigemina* estava associada ao uso de banhos de imersão; a utilização de outros métodos de controle para o carrapato, como os pulverizadores, mantinha uma situação de estabilidade enzoótica. Eles concluíram que a estabilidade enzoótica para a *B. bigemina* era conseqüência de um controle não tão rigoroso para o carrapato; um controle moderado, quando alguns ínstares de *Boophilus* spp. eram detectados obtinha-se uma instabilidade enzoótica e com um excelente controle, quando não eram vistos carrapatos adultos nos bovinos, resultava numa baixa soroprevalência para as *Babesias* spp.

Na África do Sul, as áreas de instabilidade enzoótica para anaplasnose são aquelas de distribuição marginal para o *Boophilus* spp. (Potgieter, 1979). O grau de estabilidade para anaplasnose não estava relacionado com a freqüência de banhos carrapaticidas, na Namíbia (Biggs & Langehoven, 1984). Norval et al. (1983) encontraram um grande número de bovinos reagentes para *A. marginale* em áreas com alto desafio por carrapato, e os banhos carrapaticidas pareceram não ter reduzido,

significativamente, o número de animais soropositivos.

Smith et al. (2000) na região de Eldorado do Sul, RS, Brasil através de um programa de simulação avaliaram algumas práticas de manejo usadas pelos produtores no controle do carrapato *B. microplus* e a influência das mesmas na estabilidade da *B. bovis*. Os tratamentos acaricidas mais usados foram os seguintes: tratamento convencional quando aplicado de acordo com a percepção dos produtores, isto é, quando o nível de infestação é economicamente importante segundo seus critérios; banhos táticos, quando coincidem com outras práticas de manejo, como por exemplo, rotação de pastagens; intervalos regulares, quando os acaricidas são usados a intervalos fixos, normalmente mensais, seguindo as estações de infestações, sendo esses baseados na duração do ciclo de vida do carrapato (21 dias) e também na ação residual do produto usado; tratamento estratégico, usa-se o acaricida utilizando-se de informações epidemiológicas, de maneira a reduzir os níveis de infestações em épocas mais favoráveis aos carrapatos. O seu uso visa diminuir as infestações de carrapatos na fase de vida livre, ou seja, nas pastagens, pois se baseia no controle da primeira geração anual que é na primavera.

Na região de Eldorado do Sul, três gerações de carrapatos foram observadas na primavera, verão e outono, uma quarta geração foi notada no início do inverno, mas seguida por uma drástica redução na carga parasitária, sendo que a ocorrência dessa geração é dependente das condições climáticas. O efeito do controle do carrapato na estabilidade enzoótica para *B. bovis* depende do método empregado e da região geográfica estudada, e os resultados encontrados com relação a esses métodos foram os seguintes: tratamento convencional não reduziu significativamente as infestações de carrapato, ficando a taxa de inoculação acima de 0,005, caracterizando uma situação de estabilidade enzoótica. Entretanto, o tratamento estratégico causou uma diminuição na população de carrapatos por um longo período de tempo, reduzindo a taxa de

inoculação de *B. bovis* abaixo do requerimento necessário para manter o estado de estabilidade enzoótica, sugerindo que esse tratamento pode resultar numa alta proporção de animais susceptíveis que, quando expostos a carrapatos infectados, podem apresentar sinais clínicos de babesiose, havendo necessidade de um eficiente programa de imunização para os agentes da TPB (Smith et al., 2000).

Na região de Tacuarembó, Uruguai, as condições climáticas permitem 2,5 a 3 gerações carrapato/ano, sendo que o pico de outono é considerado o mais importante, pois apresenta maiores cargas parasitárias. Durante os meses de inverno, ocorre uma interrupção no ciclo de vida livre, resultando em longo período com baixa taxa de inoculação de *B. bovis*, caracterizando uma situação de instabilidade enzoótica. A utilização de tratamentos estratégicos nessa região traz, como consequência, uma maior redução na carga parasitária, favorecendo o surgimento de casos clínicos de babesiose em animais susceptíveis, sendo indicada a imunização dos rebanhos como medida profilática das doenças transmitidas pelo carrapato *B. microplus* (Smith et al., 2000).

Através do modelo populacional do carrapato *B. microplus* para a região de Bagé, Alves Branco et al. (1987) elaboraram um programa de controle estratégico usando quatro banhos carrapaticidas, sendo dois banhos no início da segunda quinzena de novembro (primavera/verão); dois banhos a partir da segunda quinzena de fevereiro (verão/outono). Um outro esquema era a aplicação de seis banhos estratégicos, sendo três banhos no início da segunda quinzena de novembro (primavera/verão); três banhos a partir da segunda quinzena de fevereiro (verão/outono). O objetivo principal desse controle foi verificar o grau de desinfestação das larvas nas pastagens. Os resultados demonstraram que os benefícios proporcionados pelo controle estratégico do *B. microplus*, dizem respeito principalmente à redução no número de banhos/ano, e diminuição dos prejuízos tanto na produção de carne como de couro. Porém, dado ao alto potencial de redução de parasitismo pelo carrapato, poderá haver

uma sensível baixa na taxa de inoculação/animal/dia, trazendo como consequência uma quebra na situação de estabilidade enzoótica para os agentes da TPB.

Em muitas áreas favoráveis ao desenvolvimento do carrapato *B. microplus* na Argentina, zonas limites com o sul do Brasil, as situações de instabilidade enzoótica para a TPB são consequência do uso indiscriminado de carrapaticidas piretróides com longo poder residual e que ocasionaram uma drástica diminuição da população de carrapatos (Mangold et al., 1988; Guglielmo, 1994).

A abordagem de controle integrado se iniciou na Austrália em 1960, usando-se hospedeiros resistentes a carrapatos associado ao uso de imunógenos para os agentes *B. bovis*, *B. bigemina* e *A. marginale*. Esse método era baseado no controle integrado de insetos, que podia ser definido como a aplicação sistemática de duas ou mais tecnologias, envolvendo o meio ambiente com uma relação custo benefício positiva e que tinha como objetivo o controle de artrópodos que traziam prejuízos econômicos aos rebanhos (Bram, 1994).

O surgimento das avermectinas, nos anos 80, revolucionou o controle parasitário, que acabou por mudar a maioria dos paradigmas dessa prática, tornando possível o controle de maneira integrada abrangendo parasitos externos e internos. Mais recentemente, com a formulação da ivermectina 3,15%, com as suas características de eficácia profilática, deparou-se com significativas diferenças quando comparada aos produtos tradicionais, essa atividade varia de 42 a 63 dias para os helmintos, 75 dias para *B. microplus*, 140 dias para *Dermatobia hominis* e 56 dias para *Psoroptes bovis* (Bordin, 1999; Bridi, et al., 2000).

A eficácia terapêutica e a ação prolongada da doramectina frente ao *B. microplus*, possibilitou a utilização desse produto em programas de controle integrado de ecto e endoparasitos, pois as aplicações no final

da primavera, seguidas de tratamentos estratégicos no verão, podem reduzir a população de carrapatos abaixo dos limites de importância econômica e, ao mesmo tempo, manter as condições de estabilidade enzoótica para os agentes da TPB (Gonzales et al., 1993; Leite et al., 1995).

Em 1994, na EMBRAPA/CPPSUL/Bagé/RS, foi implantado um programa de controle estratégico integrando endo, ecto e hemoparasitos, comparando-se com o programa estratégico específico de helmintos e o de carrapatos já existentes, onde se concluiu que este novo programa possibilitou controlar as helmintoses, o carrapato e a TPB. Esse método possibilitou a redução de pelo menos 50% no número de tratamentos/ano e de mão-de-obra, além de um incremento no ganho de peso de 5,71 kg/animal/ano (Alves Branco et al., 1997).

Avanços recentes em imunologia e biotecnologia têm estimulado pesquisas para o controle de doenças parasitárias através de vacinações (Barriga, 1994). Vacinas contra ectoparasitos são alternativas com muitas vantagens em relação ao controle químico, devido a sua longevidade e ausência de resíduos (Kay & Kemp, 1994).

A vacina contra carrapatos poderia trazer uma grande contribuição ao aumento da produtividade da indústria bovina (Willadsen, 1990). Essa alternativa foi sugerida em um experimento, onde bovinos foram vacinados com extrato cru de fêmeas semi-ingurgitadas produzindo uma imunidade variável, mas muito efetiva (Johnston et al., 1986; Kemp et al., 1986). A partir daí muitas evidências mostraram que os danos ao *B. microplus* são causados por um ataque imunológico nas células intestinais dos carrapatos que ingerem esse sangue. Esta reação não parece ocorrer na imunidade natural, e fica evidente que é direcionada aos parasitos adultos, enquanto que a imunidade adquirida naturalmente é direcionada às larvas. Carrapatos que infestam animais vacinados morrem em maior quantidade no hospedeiro, e os sobreviventes diminuem o seu

ingurgitamento e sua capacidade de postura, sendo que esses fatores diferenciam a vacinação da imunidade naturalmente adquirida (Willadsen, 1990).

Segundo este mesmo autor, existem dois meios de produzir material vacinal em larga escala que devem ser levados em consideração: o uso de cultura de células de carrapatos ou a síntese de antígenos de carrapato através da tecnologia do DNA recombinante.

O conceito de antígenos ocultos não foi especificamente identificado por Allen & Humphreys (1979), mas é deles o primeiro registro de que as espécies domésticas poderiam ser significativamente protegidas contra artrópodos hematófagos usando esses supostos antígenos como vacina (Opdebeeck, 1994). Esses antígenos apresentam duas características; primeiro, não estimulam uma resposta imune durante a infestação natural por parasitos e segundo, se o hospedeiro for vacinado com o antígeno, o parasito pode ser danificado pela resposta imunológica induzida por ele (Willadsen et al., 1993).

Glicoproteínas localizadas na superfície de membranas de células intestinais do carrapato, quando usadas para vacinar bovinos, são capazes de estimular uma resposta imune que protege os bovinos contra subseqüentes infestações. Uma destas, denominada Bm 86 foi expressa na bactéria *Escherichia coli*, tendo como resultado um material recombinante chamado rBm 86 (Rand et al., 1989). Carrapatos que se alimentaram de bovinos vacinados com o resultado dessa clonagem de antígenos apresentaram sérios danos no seu desenvolvimento, segundo os mesmos autores. Os resultados da utilização desse imunógeno mostram que populações bovinas desafiadas apresentam em média 50% menos de carrapatos (Willadsen et al., 1995).

Na Austrália, a vacina rBm 86 expressa em *E. coli* é comercializada desde 1994 e tem sido promovida por associações de produtores, particularmente por criadores de gado leiteiro. As vacinações devem ser

usadas de forma estratégica para prevenir uma maior infestação por larvas de carrapato nas pastagens, isto porque o grande efeito dessas é de reduzir a capacidade de ingurgitamento e reprodutivo das teleóginas (Willadsen, 1997).

Rodriguez et al. (1994) desenvolveram a vacina contra *B. microplus* expressando o antígeno Bm86 no fungo *Pichia pastoris*, obtendo a rBm86, um material altamente antigênico e concluíram que teleóginas que se alimentavam em bovinos vacinados com esse imunógeno apresentavam sérios danos nos aspectos reprodutivos.

Massard et al. (1995) conduzindo um experimento no estado do Rio de Janeiro, a fim de estudar a eficácia do inóculo rBm86 expresso em *P. pastoris*, concluíram que o grupo vacinado apresentou, em relação ao grupo controle, uma redução de 40% no número de teleóginas, 6,2% no peso dessas, 8% no índice de produção de ovos e 12% na fertilidade desses. Considerando os diferentes índices analisados a eficácia integral foi de 51%. Sabendo que em muitas regiões do Brasil existem quatro a cinco gerações de carrapato/ano, pode-se deduzir que, em um único uso da vacina, ocorrerá uma marcante redução na população de carrapatos nos campos de pelo menos uma geração e meia por ano, o que em muito contribuirá no controle desse importante ectoparasito.

Existem evidências suficientes para indicar que a vacinação contra o *B. microplus* possui um grande potencial para ser utilizada como uma medida de controle devido a sua especificidade, capacidade de promover um controle de longo período e contribuir para a diminuição da poluição ambiental por acaricidas. Uma vacina anti-carrapato será utilizada provavelmente junto com acaricidas convencionais diminuindo, portanto, a utilização dos mesmos e, em consequência, retardando o aparecimento de carrapatos resistentes (Masuda et al., 1995; Massard et al., 1995; Rodriguez et al., 1994, 1995; Willadsen et al., 1995; Mora Hernandez, 1996).

Rodríguez et al. (1995) acompanharam a transmissão de *B. bovis* em 5740 bovinos, oriundos de zonas de instabilidade enzoótica para babesiose bovina. Casos clínicos eram na média de 5,7/1000 bovinos e, após a primeira aplicação do imunógeno rBm86 (*P. pastoris*), esses casos diminuíram para 1,5/1000 bovinos ($p < 0,0001$). O efeito da vacina na transmissão de *B. bovis* foi provavelmente, o resultado do efeito da vacina na infestação de *B. microplus*.

Vanegas et al. (1995) encontraram um decréscimo no número de casos de anaplasmose após o uso do antígeno rBm86 (*P. pastoris*), na Colômbia, dois meses e meio a cinco meses após a primeira vacinação. Os autores concluíram que isso foi devido ao efeito da vacina na população de carrapatos.

Estratégias específicas para o controle do complexo parasitário (carrapato e TPB) devem levar em consideração muitos fatores, tais como as raças criadas e o sistema de manejo empregado, sendo assim, qualquer que seja a medida usada no controle do carrapato *B. microplus*, deve preservar ou manter a estabilidade enzoótica para a babesiose através de exposição natural ao vetor, ou, se necessário, através de imunização (Tatchell, 1992; Pegram, et al., 1993).

3.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E FATORES EPIDEMIOLÓGICOS DA TPB CAUSADA PELOS AGENTES *A. marginale*, *B. bigemina* E *B. bovis*.

As doenças animais, em geral as transmitidas por carrapatos, juntamente com outros fatores, influenciam direta ou indiretamente o crescimento do setor agropecuário em diversas partes do mundo (Sansoucy, 1995).

Uma variedade de hemoparasitos ocorre em ruminantes na América do Sul, mas o grande impacto econômico é causado pelos hemoprotozoários *B. bovis* e *B. bigemina* transmitidos pelo carrapato *B. microplus* e pela rickettsia *A. marginale* (Nari, 1995). Com relação a essa rickettsia são citados

como vetores os carrapatos ixodídeos, os insetos hematófagos dos gêneros *Tabanus*, *Stomoxys*, *Chrysops*, *Siphona* e os mosquitos do gênero *Psorophora* (Ristic, 1968). Os tabanídeos aparentam ser os transmissores mecânicos mais eficientes, situação também observada nos EUA, até mesmo em áreas em que o carrapato *B. microplus* é considerado vetor (Guglielmone, 1994), entretanto, os trabalhos experimentais sobre a transmissão de *A. marginale* por insetos hematófagos apresentam resultados contraditórios, necessitando novas investigações para comprovar a importância epidemiológica dos mesmos (Kessler, 2001).

A transmissão biológica do *A. marginale* por várias espécies de carrapatos ixodídeos foi demonstrada experimentalmente (Stiller & Coan, 1995), sendo que o ciclo evolutivo já foi descrito no *Dermacentor* spp. (Kocan et al., 1989). A transmissão transestadial e intraestadial são mais frequentes em sistemas de criação intensiva, quando o contato físico entre os animais favorece que os ínstares parasitários sejam transferidos de um animal para outro (Mason & Norval, 1981; Aguirre et al., 1994).

A transmissão iatrogênica dessa rickettsia foi citada por Guglielmone et al. (1997a), em uma zona livre de carrapato, onde foram diagnosticados 94 surtos de anaplasmose.

Com o objetivo de isolar hemoparasitos de bovinos a partir de amostras de carrapatos colhidos nas cinco regiões fisiográficas do Brasil, de nove tentativas, em cinco, foi realizado, com sucesso, o isolamento de *B. bovis* e *B. bigemina* (Kessler et al., 1987, 1998). No entanto, em nenhum dos casos houve transmissão de *A. marginale*, apesar dos carrapatos terem concluído seu ciclo em bezerros esplenectomizados, de onde os autores concluíram que não ocorreu transmissão transovariana. Nesse mesmo período não foram diagnosticados casos de anaplasmose em bovinos sensíveis e esplenectomizados, embora os mesmos estivessem vulneráveis aos dípteros hematófagos, tendo o autor concluído que não ocorreu transmissão por estes vetores (Kessler, 2001).

A distribuição geográfica do *A. marginale* na América Central e do Sul é similar a de *B. bovis* e *B. bigemina*, com exceção de algumas áreas de fronteira (Guglielmone & Mangold, 1994). Historicamente se associou a presença do *A. marginale* aos carrapatos do gênero *Boophilus*, no entanto, a erradicação do *B. microplus*, na Argentina, não resultou na eliminação desse microorganismo (Anziani, 1979), sendo reportada a ocorrência de surtos de anaplasmosose em uma região livre de carrapato *B. microplus* (Guglielmone et al., 1997a), situação similar ocorreu nos EUA, após a erradicação do *Boophilus annulatus* (Say) (Guglielmone, 1994).

Ribeiro & Lima (1996) observaram que o desenvolvimento de colônias de *A. marginale* no intestino de fêmeas ingurgitadas do *B. microplus* comporta-se de forma diferente das observadas em outros carrapatos, como o *Dermacentor andersoni* (Kocan et al., 1980, 1982) e o *Rhipicephalus simus* (Potgieter et al., 1983). Essas diferenças podem ser atribuídas às características fisiológicas ou biológicas dos carrapatos de três hospedeiros em relação ao carrapato de um hospedeiro *B. microplus*.

Um estudo realizado em dois estabelecimentos adjacentes no Valle de Lerma em Salta, na Argentina, um com infestação de *B. microplus* durante todo o ano e outro, com presença esporádica do mesmo, mostrou que as primo-infecções com *A. marginale* eram independentes da presença do suposto vetor, resultando em taxa de infecção dos bovinos similares no período de um ano (De Rios et al., 1990). Sabendo-se que o *Boophilus* é carrapato de um só hospedeiro considera-se remota a ocorrência de transmissão transovariana de *A. marginale* por este gênero de carrapato (Potgieter, 1979).

Trabalhos realizados no Noroeste Argentino mostraram uma associação bastante estreita entre a prevalência de reagentes sorológicos para *B. bovis* (transmitida exclusivamente pelo *B. microplus*) e o *A. marginale*, $R= 0,78$ (Habich et al., 1982) e que a prevalência estacional dessas

enfermidades é bastante similar (Späth, 1986). Isto é um indicativo da importância do *B. microplus* na transmissão do *A. marginale*, porém cabe ressaltar que outros transmissores dessa rickettsia também necessitam das mesmas condições ambientais do *B. microplus*, que regula a transmissão das babesioses (Guglielmone & Mangold, 1987).

A anaplasmosose é uma infecção que pode ser aguda ou crônica nos bovinos, sendo mais comumente encontrada nas regiões tropicais e sub-tropicais e na fase aguda a mesma pode ser diagnosticada através de esfregaços sanguíneos, porém a parasitemia com frequência é baixa em infecções subclínicas ou crônicas (Nielsen et al., 1996).

Foi realizado um estudo da dinâmica de infecções naturais por *A. marginale*, durante o período de um ano, na região Metalúrgica do estado de Minas Gerais. Os resultados indicaram que os bezerros que nasceram no período de março a julho sofreram a infecção em outubro e novembro, independentemente da idade, enquanto que os que nasceram entre setembro e dezembro adquiriram a infecção nos primeiros dias de vida, com parasitemia patente a partir de 30 dias de idade. Os autores concluíram que a primo infecção sofreu influência das estações do ano e que bezerros, nascidos na estação seca, apresentam maior risco à anaplasmosose, quando expostos às condições favoráveis a presença dos vetores mecânicos (Melo et al., 2001).

A TPB é extremamente importante do ponto de vista sanitário e econômico, caracterizando-se por altos índices de morbidade e mortalidade, prejuízos na produção de carne e leite, diminuição da fertilidade de touros e abortos, custos com tratamentos e manejos especiais. Segundo estudos de produção e sanidade realizados no Brasil, os produtores apontam o carrapato e a TPB como um dos maiores problemas sanitários dos rebanhos brasileiros (Madruga et al., 1986a). Nos EUA, onde a babesiose foi eliminada com a erradicação do carrapato *B. annulatus*,

estudos econômicos mostram que se esses parasitos estivessem estabelecidos em zonas enzoóticas, as perdas anuais seriam de 500 milhões de dólares (McCosker, 1981). Esse autor considerou que as perdas econômicas por babesiose nos países da América Latina podem ser comparáveis e até maiores que as dos E.U.A., sendo avaliados em 1,9 dólares/cabeça/ano.

A prevalência de carrapatos e dos agentes da TPB são fatores importantes e intimamente relacionados em todas as criações bovinas no continente americano (Massard, 1990). A epidemiologia da TPB, em especial das babesioses, é determinada por uma série de fatores, entre eles destacam-se: condições climáticas, raça, idade, manejo, uso de carrapaticidas e presença de agricultura. Esses são importantes na transmissão de *Babesia* spp., influenciando em cada um dos componentes do ciclo de vida: vetor, parasito e hospedeiro vertebrado (Friedhoff & Smith, 1981). As diferenças climáticas, tipo de solo e as raças bovinas influenciam diretamente na população de carrapato *B. microplus* e, dessa forma, têm estreita relação com o nível de infecção das *Babesias* nos bovinos e nos carrapatos (Guglielmone, 1995).

Existe uma importante diferença na transmissão de *B. bovis* e *B. bigemina*, sendo que a primeira é transmitida exclusivamente por larvas de *B. microplus* e a segunda é transmitida a partir do estágio ninfal até o estágio adulto (Rieck, 1966, 1964). A larva perde a infectividade por *B. bovis* após ter realizado sua transmissão para o hospedeiro e, conseqüentemente, as ninfas e adultos não são infectadas por este protozoário (Mahoney & Mirre, 1979). Isso sugere que não ocorre infecção vertical no carrapato de um hospedeiro *B. microplus*, pois os carrapatos se infectam a partir do repasto sanguíneo das fêmeas ingurgitadas seguido por transmissão transovariana (Friedhoff & Smith, 1981).

Mahoney (1969) demonstrou que bovinos têm a capacidade de infectar carrapatos com *B. bigemina* por 4 a 7 semanas pós infecção, e com *B. bovis* por mais de um

ano. Em geral, pode-se concluir que parasitemias extremamente baixas podem induzir a infecção alimentar das teleóginas, e até mesmo hospedeiros refratários podem dar origem a infecção dos carrapatos. Dessa forma, conclui-se que o ciclo no vetor e a fase inicial da parasitemia nos bovinos são importantes fatores para a infecção alimentar de algumas espécies de carrapatos (Friedhoff & Smith, 1981).

A distribuição das infecções por *Babesia* spp. está relacionada à ocorrência dos carrapatos vetores, portanto, os fatores climáticos têm influência direta na transmissão desses protozoários (Dalgliesh & Stewart, 1979). Baixas temperaturas podem inibir completamente a alimentação e infecção transovariana de fêmeas de carrapato *B. microplus* (Rieck, 1964). Aumentos na temperatura podem ativar a infecção de babesia em carrapatos não alimentados (Dalgliesh & Stewart, 1976, 1978, 1979). Exposição à temperaturas de 30°C e 37°C também induzem o desenvolvimento dos estádios infectivos nos ovos do carrapato (*B. microplus*: *B. bovis* e *B. bigemina*) (Dalgliesh & Stewart, 1978). A umidade relativa do ar e luminosidade não têm a mesma importância no desenvolvimento das *Babesias* nos carrapatos vetores, como a temperatura acima mencionada (Friedhoff & Smith, 1981).

Observações demonstram que a *B. bovis* permanece viável em larvas de *B. microplus* estocadas a 14°C e 95% de umidade relativa do ar por 65 dias e não por 76 dias. Sabendo-se que as larvas de carrapato sobrevivem em torno de 200 dias no meio ambiente e que vão perdendo o poder de infectividade, fica evidente, portanto, que a idade dos carrapatos é um importante fator na transmissibilidade das *Babesias* (Dalgliesh & Stewart, 1979; Hitchcock, 1955).

A chave da interpretação da epidemiologia da TPB é a quantificação da taxa de inoculação, ou seja, o número de picadas positivas recebidas pelo hospedeiro numa unidade de tempo (dias, meses, anos), sendo essa taxa resultado de dois fatores:

número de carrapatos presentes e a proporção destes infectados com os agentes da TPB. É possível calcular a taxa de inoculação mediante o uso de testes sorológicos que identificam a proporção de animais realmente positivos/negativos (Mahoney, 1969; Mahoney & Ross, 1972).

Epidemiologicamente, as áreas permanentemente infestadas com carrapato, são caracterizadas por um estado de equilíbrio entre os bovinos e os hemoparasitos, onde há a situação de estabilidade enzoótica. No entanto, em regiões onde as condições climáticas não são tão favoráveis ao carrapato, e as infestações variam conforme as estações, existe o risco de surtos esporádicos de babesiose clínica, caracterizando assim uma condição de instabilidade enzoótica (Mahoney, 1962; Mahoney & Ross, 1972). De acordo com Guglielmo (1995) dependendo do tipo de raça criada, do tipo de manejo, dos níveis de infestações do carrapato *B. microplus*, etc, áreas consideradas instáveis podem tornar-se estáveis e vice-versa.

Norval et al. (1983) referem-se que a babesiose não parece ser a causa de mortalidade em bovinos em localidades onde a percentagem de positivos é maior que 80% e de acordo com a frequência de soros positivos estabelecem diferentes situações epidemiológicas, tais como: estabilidade enzoótica (81 - 100 %); situações próxima à estabilidade enzoótica (61 - 80%); instabilidade enzoótica (21 - 60%); risco mínimo de doença (1 - 20%) e áreas livres (0%). A detecção de anticorpos é um indicador de imunidade a essas parasitoses e a percentagem de animais sorologicamente positivos determina a situação epidemiológica da TPB num rebanho ou região fisiográfica, como uma situação de estabilidade ou instabilidade enzoótica. Na primeira situação, mais de 75% dos bovinos tem imunoglobulinas específicas contra os agentes da tristeza parasitária, enquanto que, na segunda, a percentagem de soropositivos está abaixo de 75% (Mahoney, 1975). Isto indica que, na estabilidade enzoótica, o risco de surto de TPB é pouco provável, enquanto que na

instabilidade, o risco é elevado, principalmente se houver um aumento da população de vetores na região ou se estes animais forem transportados para áreas onde as infestações de carrapatos proporcionem elevadas taxas de inoculação de *Babesia* e *Anaplasma*. Uma vez que os anticorpos indicam que o animal produziu uma resposta imune humoral, as provas sorológicas têm uma grande importância na avaliação dos métodos preventivos, tais como a aplicação de sistemas de controle de vetor, premunicação e/ou vacinação com cepas atenuadas (Madruga & Araújo, 1998).

As situações de risco para a TPB também podem ser ocasionadas por certas práticas de manejo, como a diminuição das populações de carrapato por grande pressão de uso de acaricidas, causando como consequência a diminuição da transmissão dos hematozoários, ou por falhas nos tratamentos com o aumento da taxa de infecção do carrapato, podendo ocorrer surtos de tristeza, se os animais não estão devidamente protegidos (Solari & Quintana, 1994).

Infecções clínicas com *B. bovis* e *B. bigemina* são restritas aos bovinos e nenhum importante animal silvestre é considerado como reservatório. Após a recuperação da doença clínica, os animais tornam-se portadores crônicos da infecção por um período variado de tempo (Friedhoff & Smith, 1981). A *B. bovis* é responsável pela maioria dos surtos na Austrália e também em outros países (Johnston, 1968; Rogers, 1971). Um surto é definido como uma "situação em que um ou mais animais morrem de babesiose em uma propriedade ao mesmo tempo". Em alguns casos a *B. bovis* é responsável por mais de 90% dos surtos quando comparados com 5,5% ou menos dos causados por *B. bigemina* (Friedhoff & Smith, 1981).

A idade é um importante fator na determinação da severidade da infecção e as maiores percentagens de surtos ocorrem entre 10 a 24 meses, seguida pela faixa etária que compreende 25 a 36 meses e animais com até 9 meses são muito menos

afetados por esta enfermidade (Rogers, 1971).

A frequência dos surtos de babesiose está associada à flutuação sazonal do carrapato *B. microplus* (Johnston, 1968; Rogers, 1971). O número de carrapatos e os surtos de babesiose aumentam após o fim de uma estação chuvosa e tem sido sugerido que o aumento do controle do carrapato através da introdução de carrapaticidas organofosforados pode influenciar na redução do número de carrapatos e conseqüentemente no aumento dos casos de babesiose (Friedhoff & Smith, 1981).

Rogers (1971) encontrou que muitos surtos ocorrem entre bovinos nascidos e criados em regiões infestadas por carrapatos no norte setentrional de Queensland, Austrália. Ele observou que áreas marginais ocorrem quando a flutuação de carrapato é grande durante o ano, tendo como resultado que muitos animais não são infectados numa idade jovem, quando são mais resistentes à doença clínica. Surtos também ocorrem entre animais que são transportados de uma propriedade para outra em que a população de carrapatos é relativamente estável durante o ano. Como esses animais podem ter sido infectados numa idade jovem, esses surtos podem ser devido a infecções com diferentes cepas, o que pode levar à doença clínica. A raça bovina também influencia na severidade da doença, pelo menos a causada pela *B. bovis*, a introdução de sangue zebuino como o da raça Brahman em cruzamentos com raças britânicas aumenta a resistência a doença clínica causada por esta espécie de *Babesia*. Essa situação que também pode ser observada no RS, pode ser atribuída à presença de fatores semelhantes, condicionados pela localização geográfica.

No Nordeste da Argentina, fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* que se alimentam em bovinos *B. taurus* têm infecção por *Babesia* em torno de 2-23% de acordo com o nível de infestação dos bovinos com o carrapato vetor (Guglielmone et al., 1988). Comparativamente estudos em raças européias e raças zebuínas mantidos sob as mesmas condições de pastagem

mostraram baixas parasitemias de *B. bovis* e *B. bigemina* nos animais de sangue zebuino (Aguirre et al., 1990). A percentagem de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* infectada com *Babesia* spp. variou de 0-5% nos zebuínos e de 18-40% nos taurinos (Guglielmone et al., 1989).

Uma outra forma de estudar a dinâmica da infecção por *Babesia* spp. no campo é medir a taxa de inoculação, ou através de esfregaços sangüíneos positivos dentro de uma faixa etária definida ou baseada em uma determinada época do ano (Mahoney, 1969; Mahoney & Ross, 1972). A taxa de infecção de *Babesia* spp. é definida através da proporção de bovinos dentro de uma faixa etária definida que são sorologicamente positivos para *B. bovis* e *B. bigemina* (Mahoney & Ross, 1972).

Embora vários estudos já tenham sido conduzidos sob diferentes situações epidemiológicas, novos trabalhos necessitam ser realizados para melhor compreender a relação entre *Babesia-Boophilus-Bos* nas Américas Central e do Sul (Guglielmone, 1995).

3.2.1. ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS DOS AGENTES DA TPB REALIZADOS EM ALGUMAS REGIÕES DO BRASIL

O estudo epidemiológico da TPB em uma determinada zona pode revelar a possibilidade de ocorrência ou não de surtos (Souza et al., 2000) e a identificação de bovinos portadores de anticorpos contra os agentes da TPB constitui um importante auxílio para o conhecimento da epidemiologia desses hemoparasitos (Martins et al., 1996).

Nas regiões de estabilidade enzoótica, os bezerros são infectados pelos agentes da TPB durante os primeiros dias de vida quando possuem imunidade passiva, transmitidas pelas vacas através do colostro. Os bezerros, sendo reinfectados repetidamente, nesse período, desenvolvem a imunidade ativa que garantirá sua proteção contra a doença na idade adulta. No Mato Grosso do Sul, verificou-se que o período crítico que coincide com os mais

baixos títulos de anticorpos no soro dos bezerros, está entre os 28 e 56 dias de idade para *B. bigemina* e 56 e 84 dias de idade para a *B. bovis* (Madruga et al., 1984). Para a anaplasmose o período crítico situa-se em torno de 60 dias de vida (Madruga et al., 1985). A totalidade de bezerros sororeagentes ocorreu, em média, aos 74,6 dias para *B. bigemina* e aos 87,2 dias para *B. bovis*, caracterizando uma situação de estabilidade enzoótica (Madruga et al., 1987).

A prevalência de anticorpos anti-*A. marginale*, na zona da Mata de Minas Gerais foi realizado através do exame de soros pelas técnicas de aglutinação em cartão (TC) e RIFI, onde os resultados revelaram 73,5% de positivos ao TC e 81,1% a RIFI, caracterizando que a doença foi enzoótica na região analisada. Na mesma região 26,5% e 18,9% dos animais adultos, examinados pelos mesmos testes, não apresentaram anticorpos contra anaplasmose, indicando que não foram infectados quando jovens, permitindo concluir que a transmissão nessa área não é constante durante todo o ano, o que causa a instabilidade da doença (Ribeiro et al., 1984). Outro levantamento na mesma região foi feito por Patarroyo et al. (1987) onde concluíram que dos 351 soros examinados pela técnica de RIFI, 79,04% foram positivos à *B. bigemina* e 82,53% à *B. bovis*, indicando uma situação estável enzooticamente. Estes resultados confirmam que as infecções por estes agentes estão amplamente difundidas nesta zona, possivelmente devido a distribuição do carrapato vetor *B. microplus*.

No RS, um estudo foi conduzido a fim de estudar a prevalência sorológica da *B. bovis* e *B. bigemina* e foram identificadas três situações epidemiológicas no estado: a primeira, localizada ao norte (30.3°S – 31.3°S), considerada como enzoótica; a segunda localiza-se ao sul (31.3°S – 33.0°S), considerada marginal e, a terceira localizada no extremo sul (abaixo da latitude 33°S), considerada como livre desses hemoprotozoários (Leite, 1988).

Em levantamento sorológico realizado por Artilles et al. (1995) em três diferentes ecotipos do município de Bagé, RS, foram determinados diferentes níveis de enzootia para os agentes da TPB, obtendo-se uma média de prevalência para *B. bovis* de 74%, *B. bigemina* 87% e *A. marginale* 64%, portanto, pode-se considerar uma zona de estabilidade enzoótica para *B. bigemina* e de instabilidade enzoótica para *B. bovis* e *A. marginale*.

Alguns aspectos da epidemiologia de *B. bovis* foram avaliados em Santana do Livramento, RS, através de análise de práticas de manejo aplicadas sobre 101 rebanhos bovinos e pela detecção de anticorpos de *B. bovis* em bovinos com idade aproximada de 11 meses, utilizando-se um teste imunoenzimático (ELISA). Rebanhos com prevalência de anticorpos variando entre 15 e 80% foram considerados em risco de exposição a surtos de babesiose. Um total de 53% dos rebanhos estudados encontravam-se em situação de instabilidade enzoótica para *B. bovis* e a proporção de rebanhos *B. taurus* e *B. taurus* x *B. indicus* em instabilidade foram similares (Martins et al., 1994).

Araújo et al. (1997) realizaram um levantamento sorológico no estado da Bahia com relação à *B. bovis* e *B. bigemina* através da técnica de RIFI e Conglutinação Rápida onde concluíram que as altas prevalências para ambas espécies de *Babesia* detectadas nesse levantamento permitiram caracterizar essas regiões estudadas como sendo de estabilidade enzoótica. Esses dados sugerem que o nível de infestação dos bezerros pelo carrapato *B. microplus* nessas microrregiões é suficiente para que estes se infectem com *B. bovis* e *B. bigemina* desde os primeiros meses de vida, adquirindo imunidade ativa antes do desaparecimento dos títulos de anticorpos colostrais.

Um estudo epidemiológico a fim de estudar as prevalências de *B. bigemina* e *B. bovis* foi conduzido no estado de MG, sendo que no início do experimento os animais tinham em média 54 carrapatos. Esse número decresceu durante a estação seca,

umentando com a estação chuvosa. Todos os bovinos tornaram-se sorologicamente positivos para as duas espécies de *Babesia* em torno de quatro meses de idade. Os títulos mais elevados (1:640) foram observados durante a estação chuvosa, especialmente para a *B. bigemina*. Concluiu-se que as maiores infestações de carrapatos ocorreram na estação chuvosa e que nas condições de manejo usadas, bezerros jovens estão mais sujeitos às babesioses no início da primeira estação seca quando os níveis de anticorpos são mais baixos (Passos et al., 1997).

Com o objetivo de estudar a ocorrência de *A. marginale*, *B. bigemina* e *B. bovis*, 417 amostras de soros provenientes de rebanhos leiteiros do estado do Paraná foram testadas através da RIFI para a pesquisa de anticorpos contra esses agentes. Esses soros foram testados numa diluição única de 1:80, e os resultados revelaram situações de instabilidade enzootica para *B. bigemina* com 69,3% de animais soro-positivos, para *B. bovis* com 60,19% de soro-reagentes e para o *A. marginale*, a soropositividade foi de 67,38% (Vidotto et al., 1997). Situações de estabilidade enzootica para o *A. marginale* também foram descritas na mesorregião do Médio Paraíba, RJ (Souza et al., 2001) e na região da Bahia (Araújo et al., 1998a).

Com o objetivo de avaliar a imunidade passiva anti- *B. bovis*, a primo-infecção e a respectiva resposta imune de terneiros nascidos na primavera do RS, foi conduzido um trabalho com 31 fêmeas da raça Santa Gertrudis. A análise sorológica revelou que 93,5% das matrizes estavam soropositivas para *B. bovis*, antes da parição. A frequência de terneiros sorologicamente positivos, aos cinco dias de idade, foi similar ao das matrizes, sendo detectada correlação moderada entre os títulos de anticorpos de ambos. Os anticorpos colostrais decresceram a partir do quinto dia de vida, e ao quarto mês 83,9% estavam negativos. A primo infecção ocorreu aos 90 dias de idade, coincidindo com as primeiras infestações de carrapatos observadas nos animais, tendo início a resposta humoral pós-infecção, no entanto, a maioria dos

animais apresentaram a primo infecção com 180 a 210 dias de idade, quando também foram detectadas as maiores parasitemias. Aos 360 dias de idade todos os animais apresentavam-se sorologicamente positivos à *B. bovis*, caracterizando uma situação de estabilidade enzootica, fato atípico na região Sul do Brasil, o que explica a rara ocorrência de casos clínicos nesta propriedade (Krolow et al., 2002).

3.3. RESPOSTAS IMUNES AOS AGENTES DA TPB.

Os mecanismos imunes específicos compreendem tanto componentes humorais como celulares. Os anticorpos protetores, induzidos primariamente como resultado da atividade de linfócitos T auxiliares, neutralizam a invasão dos eritrócitos pelos merozoítos e potencializam a fagocitose de parasitos na sua fase extracelular, havendo evidências que a recuperação das infecções por *Babesia* é um processo dependente de linfócitos T (Brown & Logan, 1992).

Segundo Hemmer et al. (2000), embora a imunidade humoral adquirida seja importante no controle da infecção por *Babesia*, numa infecção primária as células do sistema imune inato são mais importantes para interromper ou controlar o desenvolvimento dos parasitos, evidenciando que esta imunidade pode estar envolvida na destruição dos parasitos, antecipadamente à detecção de anticorpos. Monócitos ativados, macrófagos, neutrófilos e as células "natural killer" (NK) constituem a primeira linha da imunidade inata. Durante o início da infecção, os monócitos e neutrófilos são atraídos para o local da infecção, antes do aparecimento de anticorpos específicos (Court et al., 2001). Brown & Palmer (1999) referem-se que os mecanismos envolvidos na imunidade inata são fundamentais na resolução da infecção aguda causada pelas *Babesias* enquanto que a imunidade adquirida é mais importante para a resistência aos desafios com amostra homóloga ou heteróloga. A partir do momento que o parasito invade o hospedeiro vertebrado e entra em contato com o seu sistema imune inato, é que será determinado o grau de infecção ou a

resolução da mesma, como consequência do tipo de resposta imune específica desenvolvida (Brown, 2001.)

Sabe-se que existem alguns fatores fisiológicos ou bioquímicos de resistência inata que desempenham um papel fundamental no desenvolvimento da imunidade dos bovinos frente às infecções por *Babesia* spp. Um fator dialisável de peso molecular < 14 kDa, que promove a inibição da multiplicação de *B. bovis* e sua eventual morte no interior dos eritrócitos, foi encontrado no soro de bezerros provenientes de área livre de carrapatos e com sorologia negativa para esse hemoprotozoário (Levy et al., 1982).

A imunidade passiva, fornecida pelos anticorpos colostrais, é um fator determinante para o estabelecimento do equilíbrio parasito/hospedeiro (Mahoney, 1975). Possivelmente, o mecanismo envolvido nessa proteção compreende a fagocitose por macrófagos, após a opsonização dos eritrócitos infectados ou merozoítos livres por essa classe de anticorpo, evidenciando a cooperação entre componentes da imunidade específica e inata (Mahoney et al., 1979).

Os níveis de anticorpos aumentam durante a fase aguda da infecção e declinam durante a fase crônica. Estudos sobre a cinética da produção de anticorpos contra a *B. bigemina* evidenciaram que a IgM é detectada sete dias após a inoculação por esse hemoprotozoário, alcançando um pique no 12º dia e persistindo em um platô até o 22º dia, declinando até baixos níveis no 28º dia pós-inoculação. A IgG também é detectada no 7º dia pós-infecção, alcançando títulos mais altos no 12º dia e permanecendo assim por sete semanas (O'Donoghue et al., 1985). Ross e Lohr (1968) encontraram anticorpos colostrais em bovinos com mais de um mês de idade e os mesmos persistiram por um período de 17 semanas após o nascimento. Em condições naturais a campo foram detectados anticorpos anti-*B. bigemina* num período de 4,5 semanas e anti-*B. bovis* num período médio de 6,5 semanas após o desafio pelo carrapato (Todorovic et al., 1976).

Com relação aos mecanismos de imunidade contra o *A. marginale*, ainda não estão totalmente conhecidos, no entanto, há evidências que a imunidade protetora nas infecções por essa rickettsia tem a participação das respostas imune humoral e celular (Palmer & McElwain, 1995). Inicialmente surge IgM e, no espaço de cinco a sete dias, é detectada a produção de IgG. Após a fase aguda da doença ter passado, os anticorpos atingem a concentração máxima. Os anticorpos circulantes são compostos por 25% de IgG e 75% de IgM, essa proporção persiste por vários meses, e aos 18 meses, detecta-se apenas IgG. O período, após infecção por *Babesia* ou *Anaplasma* em que os anticorpos são detectados, é variável, dependendo da reação do hospedeiro à infecção, e da sensibilidade do teste empregado. De maneira geral, para os três agentes citados, o primeiro pique nos níveis de anticorpos coincide com a produção de IgM e IgG, sendo que esta última persiste por um período mais longo. Os níveis mais baixos de IgG nos animais cronicamente infectados são, provavelmente, compensados pela maior afinidade dos anticorpos pelos antígenos, em decorrência do fenômeno de maturação da afinidade (Madruga & Araújo, 1998).

3.4. IMUNODIAGNÓSTICO DOS AGENTES *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*.

O termo imunodiagnóstico deriva da união da palavra imune, que provém do latim (immune = que tem imunidade; isento; livre) com a palavra diagnóstico, originada do grego (diagnostikós=capaz de discernir), para se referir ao conhecimento ou determinação de componentes do sistema imune/e/ou a eles relacionados (Soares, 2001).

As doenças infecciosas e parasitárias são de grande importância na Medicina Veterinária, pois são enfermidades comuns que causaram e continuam determinando grandes prejuízos à pecuária nacional, e, indiretamente, à humanidade (Soares, 2001). A associação dos hemoparasitos e carrapato dos bovinos determinam perdas

anuais substanciais no Brasil, o que justifica a necessidade do controle dessas enfermidades, e nesse aspecto, o imunodiagnóstico é essencial, pois permite a realização de estudos epidemiológicos, o diagnóstico de agentes etiológicos e a avaliação da eficiência de medidas preventivas, incluindo o uso de vacinas (Madruga et al., 2001).

Os métodos de imunodiagnóstico, que tiveram seu início no meio do século XIX com o advento da teoria da imunidade humoral, e as primeiras reações de aglutinação, no Instituto Pasteur, evoluíram em conseqüência dos avanços na imunologia. Nos últimos anos, os métodos de diagnóstico sorológico para *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* tiveram um grande desenvolvimento, como conseqüência dos avanços na imunologia e bioengenharia, que permitiram o desenvolvimento de técnicas mais eficientes e a automação das mesmas (Madruga et al., 2001).

Böse et al. (1990) verificaram ser o ensaio imunoenzimático de adsorção (ELISA) a prova mais indicada no diagnóstico sorológico de rebanhos para *B. bovis*, mesmo utilizando antígenos brutos porque permite a detecção de anticorpos da classe IgG em portadores assintomáticos com elevada margem de segurança, além de ser mais prática por permitir a realização simultânea de uma maior quantidade de exames. Bose et al. (1995) discutem sete métodos de diagnóstico para *Babesia* spp. com vantagens e desvantagens de cada um e citam como uso rotineiro a RIFI para *B. bovis* e *B. bigemina* e o teste de ELISA para *B. bovis*. Embora a RIFI seja a técnica considerada como referência para a detecção de anticorpos anti-*Babesia* spp., o ELISA é a prova que confere melhores resultados por ser mais sensível e específico (Barry et al., 1982; Araújo et al., 1998b).

O ELISA para pesquisa de anticorpos anti-*A. marginale* tem sido aperfeiçoado e atualmente é um dos mais indicados para estudos sorológicos da anaplasmoze bovina em vários países devido à sua praticidade, especificidade e sensibilidade (Barry et al.,

1982; Barry et al., 1986; Wincler et al., 1987; Araújo et al., 1998b; De Echaide et al., 1998). Montenegro-James et al. (1990) mostraram que o DOT-ELISA quando comparado com a RIFI, na detecção de anticorpos anti-*A. marginale*, mostrou-se mais fácil, rápido e mais objetivo na interpretação dos resultados. A simplicidade aliado ao baixo custo, combinado com a alta sensibilidade e especificidade, indica que esse teste pode ser usado em levantamentos epidemiológicos da anaplasmoze bovina. Nielsen et al. (1996) desenvolveram um teste de ELISA para detectar anticorpos anti-*A. marginale* e os resultados evidenciaram uma sensibilidade de 87,3% e especificidade de 98,4%.

Recentemente, as sondas de DNA surgiram como técnicas de grande potencial no diagnóstico direto dos hemoparasitos. Entretanto, na prática, essas não apresentaram uma sensibilidade maior que os esfregaços sangüíneos ou provas sorológicas. Por exemplo a RIFI apresentou uma sensibilidade similar a uma sonda de DNA da *A. marginale* (Goff et al., 1990). No entanto, outras experiências demonstram que a investigação da anaplasmoze bovina com o uso de sondas de DNA, possibilitará explorar o potencial diagnóstico que essa metodologia oferece (Aboytes et al., 1991). Diversas sondas de DNA para *Babesia* spp. não mostraram uma sensibilidade maior que os esfregaços de sangue (Petchpoo et al., 1992). Dalgliesh (1993) mostrou que uma sonda produzida com múltiplas cópias de DNA genômico de *B. bovis* foi menos sensível que o esfregaço de sangue. A reação de polimerase em cadeia (PCR) possui sensibilidade superior às sondas de DNA, devido à ampliação de seqüências específicas do DNA de *Babesia* ou *Anaplasma*. O PCR para *Babesia* spp. pode detectar DNA do parasito a níveis de 10^9 de parasitemia, portanto, cerca de 100 vezes mais sensível que o esfregaço sangüíneo (Figueroa et al., 1992).

De Echaide et al. (1998) verificaram que um teste de ELISA usando uma proteína recombinante de superfície (rMSPS) teve uma sensibilidade de 96% na detecção de anticorpos anti-*A. marginale* e que o nPCR

foi capaz de detectar 30 eritrócitos infectados por ml de sangue com baixos níveis de parasitemia.

No teste de RIFI são utilizados, como antígenos, esfregaços sangüíneos com eritrócitos parasitados (Madruga et al., 1986b). Os anticorpos IgG, presentes no soro teste, reagem com o antígeno, sendo identificados por anticorpos anti - IgG bovina marcados com isotiocianato de fluoresceína. Esse teste apresenta boa sensibilidade, mas diferentes níveis de fluorescência; fluorescência inespecífica, rastros de pontos irregulares, fadiga e subjetividade do operador, são alguns inconvenientes apresentados pelo teste que têm dificultado a sua padronização (Goff et al., 1985; Böse et al., 1995). Entre outras provas sorológicas, a RIFI e os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) são os mais utilizados para levantamentos epidemiológicos do complexo TPB. A concordância desses dois métodos já foi comprovada (Martins et al., 1996; Araújo et al., 1998b; Madruga et al., 2000c).

Gonçalves Ruiz et al. (1999) padronizaram um teste de ELISA usando uma preparação de antígenos brutos para detectar anticorpos da classe IgM anti-*B. bovis*, encontrando 94% de especificidade e 100% de sensibilidade. Os autores concluíram ser este teste simples, sensível e específico, podendo ser usado para detectar precocemente a soroconversão de animais infectados.

Madruga et al. (2000b) desenvolveram um ELISA para detectar anticorpos anti-*B. bovis* avaliando este teste comparativamente à RIFI. A sensibilidade e especificidade foi

determinada pela avaliação de 100 soros positivos de bovinos infectados experimentalmente e 108 soros negativos colhidos de animais livres da infecção por esse hemoprotozoário, sendo de 98% e 98,1%, respectivamente. A comparação entre os dois testes revelou concordância significativa entre os resultados.

Um teste rápido de conglutinação (TCR) com desempenho favorável à RIFI foi desenvolvido para detectar anticorpos anti-*B. bigemina*. Esse teste mostrou-se sensível, econômico e de rápida execução, sendo apropriado para uso em condições laboratoriais e também a campo. Apresentou uma sensibilidade de 90,9% e especificidade de 97%, enquanto que a RIFI apresentou para os mesmos parâmetros, respectivamente, 98,3% e 99,7%, sendo, portanto, esse teste capaz de ser usado em levantamentos epidemiológicos e também na avaliação de medidas de controle usadas para essa *Babesia* (Madruga et al., 2000a).

Com o objetivo de desenvolver um teste de ELISA para detectar anticorpos da classe IgM Gonçalves Ruiz et al. (2001) avaliaram 385 soros de bovinos originários de área livre de carrapato *B. microplus*, os quais foram submetidos ao processo de pré-munição. Os resultados evidenciaram que os títulos decresceram aos 33 dias, no entanto, todos os animais permaneceram positivos até o final do experimento. Esse teste foi considerado apropriado para estudos epidemiológicos em áreas endêmicas, bem como para avaliar a resposta humoral de bovinos frente aos processos de imunização.

CAPÍTULO II

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido na Embrapa Pecuária Sul, Bagé, na região da Campanha do Estado do RS, cuja altitude média é 181 metros. O período do experimento foi de setembro de 1999 a dezembro de 2000.

4.2. ÁREA EXPERIMENTAL

Os grupos um, dois, três e quatro constaram de duas repetições com 14 animais alocados em oito poteiros de 8,53 ha, naturalmente infestados por carrapatos, e formados por campo natural, constituído principalmente pelas espécies de gramíneas boas forrageiras: *Axonopus affinis*, *Coelorhachis selloana*, *Paspalum notatum*, *Paspalum plicatulum* e *Paspalum pumilum* no estrato inferior e as espécies arbustivas *Baccharis trimera*, *Eryngium horridum*, *Eupatorium buniifolium* no estrato superior (Girardi-Deiro et. al., 1992.) O grupo cinco constou de 15 animais alocados em poteiro livre de infestação pelo carrapato *B. microplus*.

A área apresenta variações, no relevo, de suave a forte ondulado, com afloramento de rochas. O solo é classificado como um "Luvissole Hipocrômico Órtico Típico" (Embrapa, 1999) com características de perfil raso, textura argilosa e substrato granito.

A argila é de atividade alta com saturação alta por bases (eutrófico). É de fertilidade mediana a pobre, sem vocação para a agricultura e susceptível a erosões que avançam para vossoroca. A altitude da área experimental varia de 180 a 200 m, e a precipitação pluviométrica no ano de 1999 foi de 853,8 mm e no ano de 2000 de 1479,8 mm. A média de temperatura durante o período experimental foi de 19°C. A média de temperatura durante os meses de outono e inverno, correspondendo aos períodos 4 a 6, foi de 14°C.

4.3. ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Utilizaram-se fêmeas da raça Aberdeen Angus, com 10 a 12 meses de idade, pesando em média 150 kg PV e procedentes de região com presença do carrapato *B. microplus*, com sorologia positiva para os agentes da TPB.

4.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Em 14 de setembro de 1999 todos os animais foram medicados com Dipropionato de Imidocarb¹ na dose de 2,5 ml/100 kg PV para uniformização dos lotes com relação aos hemoparasitos presentes. No dia 28 de setembro os bovinos foram pesados para a separação dos grupos experimentais e no dia 25 de outubro todos os grupos foram banhados com amitraz, independente da carga de carrapatos observado.

Os grupos foram assim constituídos:

Grupo 1: Controle Estratégico Integrado: tratado com doramectina² em 25/11/99, 02/02/2000 e 22/05/2000 mais tratamentos antiparasitários a base de benzimidazol³ e vacina refrigerada para TPB⁴ com cepas atenuadas de *B. bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma centrale*, aplicada em dose única no dia 19/11/1999.

Grupo 2: Antígeno rBm86 *P. pastoris*⁵ 1ª dose - em 29/09/1999; 2ª dose: 25/10/1999; 3ª dose: 19/11/1999 e revacinação semestral. Este grupo recebeu tratamentos táticos com banhos carrapaticidas com amitraz em 16/02/2000, 26/04/2000 e 10/05/2000.

Grupo 3: Ivermectina 3,15%⁶: Dose única - 9/11/1999.

Grupo 4: Controle Convencional: Banhos de imersão com amitraz - 25/11/1999, 21/12/1999, 15/02/2000 e 26/04/2000. Os tratamentos foram aplicados quando o nível de infestação excedia os níveis

¹ Imizol - Laboratório Coopers

² Dectomax - Laboratório Pfizer.

³ Ricobendazole - Laboratório Ouro Fino.

⁴ Eritrovac - Laboratório Hemopar.

⁵ Gavac - Heber-Biotec.

⁶ Gold - Merial Saúde Animal.

considerados aceitáveis pelos produtores, baseado na presença de teleóginas adultas.

Grupo 5: Supressivo: banhos com amitraz a cada 14 dias durante toda a fase experimental.

A intensidade da carga de carrapatos ocorrida durante o experimento foi distribuída em intervalos de classes, ficando assim dividida: classe 1 (sem presença de carrapato); classe 2 (1-20); classe 3 (21-40); classe 4 (41-80); classe 5 (mais de 80).

As infestações pelo carrapato *B. microplus* ocorridas durante o período foram classificadas de acordo com o modelo populacional da região de Bagé (Alves Branco et al., 1987) nos seguintes períodos: 1 (novembro/dezembro - 1ª geração); 2 (janeiro/fevereiro - 2ª geração); 3 (março/abril - 3ª geração); 4 (maio/junho); 5 (julho/agosto); 6 (agosto/setembro).

A intensidade de infestação de carrapatos foi avaliada através de contagens de instares parasitários entre 4,5 a 8 mm a cada 14 dias de acordo com a técnica de Wharton & Utech (1970). A colheita de soro foi realizada a cada 28 dias, no entanto, a realização da prova de RIFI foi executada a cada dois meses, a partir de novembro de 1999 até setembro de 2000, em função da disponibilidade de material existente.

4.5.1. PERÍODO DE DESAFIO COM LARVAS DE CARRAPATO *B. microplus*

As larvas de carrapato *B. microplus* utilizadas no processo de desafio para inoculação dos agentes da TPB foram obtidas através de teleóginas oriundas dos bovinos infectados do próprio experimento. As teleóginas, após colhidas foram conservadas em estufas BOD, com temperatura de 27°C e umidade relativa superior a 70%. Os ovos dos três primeiros dias de postura foram descartados, o restante foi pesado em porções individuais de 100 mg (em torno de 2000 larvas), que foram colocadas em seringas plásticas, fechadas com algodão e conservadas em estufa, para a eclosão. Nos dias 10, 12 e 14 de novembro de 2000 foi realizado o desafio com 2000 larvas de carrapato *B. microplus*

em sete animais selecionados aleatoriamente de cada uma das repetições de todos os grupos.

Os animais submetidos a esse procedimento foram acompanhados três vezes por semana, ou diariamente, quando necessário, em relação aos seguintes parâmetros: parasitemia, volume globular (VG) e temperatura retal. A parasitemia foi realizada através de esfregaços sanguíneos obtidos da punção de sangue da ponta da orelha, corados através da técnica de May Grunwald Giensa e observados ao microscópio, contando-se 100 campos por lâmina examinada. Os animais que apresentaram doença clínica (aumento maior que 2°C, na temperatura retal, parasitemias crescentes e decréscimo de mais de 50% no VG) receberam tratamento para evitar a morte. O tratamento usado para babesiose constou de aplicação de 4,4 diazoaminodibenzamidina⁷, na dose de 3,5 mg/kg de peso vivo, via intramuscular. Para a anaplasmosose usou-se cloridrato de tetraciclina⁸, na dose de 10 a 15 mg/kg de peso vivo, por via intramuscular, e o número de tratamentos, aplicados a cada 24 horas, ficou na dependência da recuperação de cada animal. Portanto, os resultados encontrados com relação à presença ou não de casos clínicos de TPB indicam o estado de proteção desses animais frente ao desafio por larvas de carrapato, validando ou não os resultados dos testes de associação linear entre o número de animais com anticorpos anti-*A. marginale*, anti-*B. bovis* e anti-*B. bigemina* e a intensidade de infestação de carrapato.

4.6. REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI)

A técnica de RIFI foi executada no Laboratório de Imunoparasitologia do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte/Embrapa, Campo Grande, MS, segundo protocolo preconizado por Madruga et al. (2001). A metodologia para a padronização dos antígenos de *B. bovis* e *B. bigemina* foi a partir da diluição dos soros

⁷ Ganaseg – Laboratório Novartis

⁸ Terramicina LA – Laboratório Pfizer

em 1:160 e 1:320 e para o *A. marginale* a partir de 1:320 e 1:640.

A padronização consistiu na diluição de três diferentes soros positivos e soros negativos a 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 e 1:640, e o conjugado na diluição de 1:80. Repetiu-se a mesma distribuição em três diferentes lâminas com diferentes diluições do conjugado (1:80, 1:160 e 1:320), o que possibilitou a discriminação dos soros positivos e negativos nas diferentes diluições.

A escolha de usar o conjugado a 1:320 baseou-se em dois motivos: melhorar a qualidade e visualização dos soros positivos/negativos e também em questões econômicas, de forma a diminuir os custos dos exames (Madruga, 2002, comunicação pessoal)⁹.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise dos resultados foi usado o teste chi-quadrado de Mantel-Haenzel (nível de significância $\alpha = 0,05$) com o objetivo de avaliar a associação linear entre quantidade de animais com anticorpos anti-*A. marginale*, anti-*B. bovis* e anti-*B. bigemina* e intensidade de infestação de carrapato *B. microplus*. Então, valores observados de P menores que 0,05 ($P < 0,05$) conduzem à decisão de declarar presença de associação linear entre as variáveis.

Portanto, esse teste de associação linear testa a tendência da variação conjunta das duas variáveis, ou seja, a tendência do valor de uma variável aumentar (ou diminuir) quando aumenta o valor de outra variável. No presente caso, tem-se interesse no teste de associação entre resposta sorológica (negativa/positiva) e nível de infestação de carrapatos (classe 1-5), onde será observada a existência de tendência de aumento (ou diminuição) da resposta sorológica com o aumento ou diminuição da infestação de carrapato. (Stokes et al., 1995).

O valor P é a probabilidade de obter um valor da estatística de Mantel-Haenzel superior ao valor particular determinado para a amostra, sob a hipótese de que não há associação linear entre as variáveis em consideração. Se o valor de P é menor que $\alpha = 0,05$ (um valor de probabilidade considerado pequeno), admite-se a presença de evidência de associação linear entre essas variáveis.

Para o estudo da associação linear entre cada uma das variáveis *A. marginale*, *B. bigemina* e *B. bovis* com a incidência de carrapato *B. microplus*, a variável que exprime número de carrapatos por animal (ncarr) foi transformada em variável de escala ordinal (carr), segundo a seguinte correspondência de valores:

Ncarr	Carr
0	1
1 – 20	2
21 – 40	3
41 – 80	4
> 80	5

A associação foi considerada positiva quando a percentagem de animais com respostas positivas (anticorpos) cresceu da classe mais baixa para a mais elevada da variável intensidade de carga de carrapatos (1-5).

Os resultados dos parâmetros avaliados pós-desafio, tais como temperatura retal e volume globular foram avaliados estatisticamente através da dms de Fischer ($p < 0,05$).

⁹ Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte – Embrapa, julho/2002.

CAPÍTULO III

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. GRUPO CONTROLE ESTRATÉGICO INTEGRADO X AGENTES DA TPB.

Os resultados relativos ao grupo submetido ao controle estratégico integrado com relação às infestações de carrapato *B. microplus* em todo o período experimental e o percentual de animais com anticorpos da classe IgG para os agentes *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina* estão apresentados na Figura 1.

A aplicação desse método de controle comprova a eficácia da doramectina frente às infestações por esse carrapato ixodídeo, concordando com trabalhos já citados por Gonzales et al. (1993) e Leite et al. (1995). Com relação aos resultados da sorologia, foi observado que 100% dos animais eram soropositivos ao *A. marginale*, evidenciando que foi mantida a estabilidade para a anaplasmose nas condições desse estudo. No que diz respeito à *B. bovis*, observa-se que no início do experimento 79% dos animais eram sororeagentes, alcançando valores acima de 90% entre os meses de janeiro a maio, no mês de julho havia 86% de animais soro positivos, porém, ao final do experimento apenas 50% dos animais apresentavam anticorpos anti-*B. bovis*.

Na região de Eldorado do Sul, RS, Smith et al. (2000), através de um programa de simulação observaram que o controle estratégico pode causar uma sensível diminuição na população de carrapatos por um longo período de tempo, reduzindo a taxa de inoculação de *B. bovis* pelas larvas de carrapato (Rieck, 1966), abaixo do requerimento necessário para manter o estado de estabilidade enzoótica, situação também observada no presente experimento, já que os níveis de infestação de carrapato *B. microplus* observados foram extremamente baixos. É importante ressaltar que esses animais foram inoculados com cepas atenuadas de *B. bovis*, *B. bigemina* e *A. centrale* no mês de novembro de 99, o que pode ter garantido essa alta soropositividade no início da fase

experimental, no entanto, ao final do estudo esse método de controle determinou uma situação de instabilidade enzoótica à babesiose causada pela *B. bovis*.

A sorologia para *B. bigemina* revelou que no início do experimento 64% dos animais tinham anticorpos anti-*B. bigemina* e aos seis meses da vacinação, apenas 57% dos bovinos apresentavam sorologia positiva para esse hemoprotozoário, evidenciando que grande parte dos animais não haviam desenvolvido resposta imune humoral. Situação semelhante já foi descrita na Argentina por Mangold et al. (1990), Aguirre et al. (1991) e Guglielmone et al. (1991) que citaram que o uso da vacina refrigerada foi eficiente para infectar com os três microorganismos a maioria dos animais, com exceção para *B. bigemina*, e referem-se que a mesma, quando atenuada, pode não ser infectiva, não levando à imunização dos bovinos. Sacco (1996) avaliou diferentes métodos de imunização contra a babesiose bovina, através do uso de amostras atenuadas de *B. bovis* e *B. bigemina* e posterior desafio desses animais com carrapatos infectados, onde concluiu que a amostra atenuada de *B. bigemina* não induziu à formação sólida de anticorpos específicos nos animais inoculados e a amostra de desafio também não foi eficiente em induzir a formação de uma efetiva resposta humoral, sendo as respostas fracas e inconstantes, com valores medianos de 1:40 a 1:80 até o final do experimento, demonstrando a pouca imunogenicidade da amostra.

Guglielmone et al. (1997b) descreveram o curso dos títulos de anticorpos de *B. bovis* e *B. bigemina* avaliados pela RIFI em bovinos de diferentes idades e raças, inoculados com cepas atenuadas de *B. bovis* e *B. bigemina*. Os resultados indicaram que o decréscimo dos títulos de *B. bovis* aos 60 dias não alteraram o percentual de soropositivos que foi superior a 90%. Entretanto, o decréscimo dos títulos de *B. bigemina* aos 60 dias resultou que 30% dos animais tornaram-se negativos quando comparado ao 50º dia. Esse experimento mostrou que a detecção de anticorpos anti-*B. bigemina* através da RIFI tornou-se

menos seguro após 50 dias da inoculação, podendo ocorrer o risco de se subestimar o total de animais protegidos.

Sabendo-se que a proteção conferida por essas vacinas vivas depende da multiplicação desses agentes vacinais nos animais receptores (Callow et al., 1980), pode-se deduzir, pelos resultados do presente trabalho, que não houve multiplicação da *B. bigemina* nos animais inoculados já no início do experimento, de onde se conclui que os animais encontravam-se em situação de risco durante a fase experimental.

Em vacinas refrigeradas é impossível um teste prévio de sua segurança e viabilidade, pois sua utilização é restrita a curto espaço de tempo após ser retirada do doador (Dalglish et al., 1990). Na Austrália também foram identificados alguns problemas com alguns inóculos vacinais que podem ser provocados por fatores que dizem respeito à imunidade dos animais aos parasitos vacinais, e não a novas populações de campo (Bock et al., 1995). No entanto, em diversos países do mundo, essas vacinas são usadas com grande sucesso, como, por exemplo, na África do Sul, Uruguai, Argentina e Brasil (De Vos et al., 1982; Nari et al., 1979; Aguirre et al., 1991; Guglielmone et al., 1997b; Kessler et al., 1987).

A eficácia terapêutica e a ação prolongada da doramectina frente ao *B. microplus*, possibilitou a utilização desse produto em programas de controle integrado de ecto e endoparasitos, pois as aplicações, no final da primavera, seguidas de tratamentos estratégicos, no verão, podem reduzir as populações de carrapatos abaixo dos limites de importância econômica e, ao mesmo tempo, manter as condições de estabilidade enzoótica para os agentes da TPB (Alves Branco et al., 1997). Como o controle estratégico de carrapatos tem como objetivo a redução ou a manutenção da estabilidade da população parasitária do *B. microplus* dentro de níveis economicamente aceitáveis e suficientes para manter o estado de premunicação dos animais contra as hemoparasitoses (Tatchell, 1992), pode-se

dizer que, ao final do período estudado, o controle estratégico integrado permitiu que apenas 50% e 71% dos animais estivessem sorologicamente positivos para *B. bovis* e *B. bigemina*, respectivamente, portanto abaixo dos níveis desejados para a manutenção da estabilidade enzoótica para as babesioses que é de 75% de animais soropositivos, conforme citado por Mahoney (1975).

A chave da interpretação da epidemiologia da TPB é a quantificação da taxa de inoculação, ou seja, o número de picadas positivas recebidas pelo hospedeiro numa unidade de tempo (dias, meses, anos), sendo essa taxa resultado de dois fatores: número de carrapatos presentes e proporção desses infectados com os agentes da TPB (Mahoney, 1969; Mahoney & Ross 1972). Sendo assim, pode-se deduzir que o uso desse programa de controle reduziu consideravelmente a taxa de inoculação pelos estádios de larva, ninfa a adulto, responsáveis pela transmissão de *B. bovis* e *B. bigemina* (Rieck, 1964, 1966).

A alta prevalência de soropositivos para *Babesia* spp. está relacionado a temperaturas médias mensais estáveis, acima de 20°C durante todo o ano, quando comparado com regiões onde a temperatura média mensal é menor que 20°C durante quatro meses do ano. Temperaturas abaixo de 20°C interferem no ciclo do carrapato e, conseqüentemente, no das *Babesias* (Friedhoff & Smith, 1981). Um fato que merece maior atenção no presente experimento é o aumento de animais soropositivos à *B. bigemina* a partir de mês de julho, o que indica que não ocorreu interrupção da transmissão transovariana pelos estádios de ninfa e adulto, embora tenhamos observado uma sensível oscilação da temperatura ocorrida entre os períodos 4 e 6 (meses de outono e inverno), ficando a mesma com uma média de 14°C, o que poderia ter afetado o ciclo do carrapato *B. microplus*. No entanto, ao final do experimento encontrou-se 71% de animais sororeagentes à *B. bigemina*, abaixo dos limites indicados para a manutenção da estabilidade enzoótica. De acordo com James et al. (1985) durante as estações chuvosas ocorre um decréscimo

na incidência de infecções por *B. bigemina*, possivelmente devido à supressão do desenvolvimento do ciclo de vida do carrapato, condição essa também observada entre os meses de outono e inverno no presente trabalho.

Baseado nos resultados acima descritos pode-se prever que a permanência do uso do controle estratégico integrado, em regiões com três gerações de carrapato

poderá levar a uma sensível diminuição da população de carrapato *B. microplus*, trazendo, como consequência, uma redução na taxa de inoculação de *B. bovis* e *B. bigemina*, determinando que os rebanhos encontrem-se em situação de instabilidade enzoótica para babesiose, sendo, portanto, indicada a aplicação de medidas profiláticas eficazes que garantam uma melhor proteção desse rebanho.

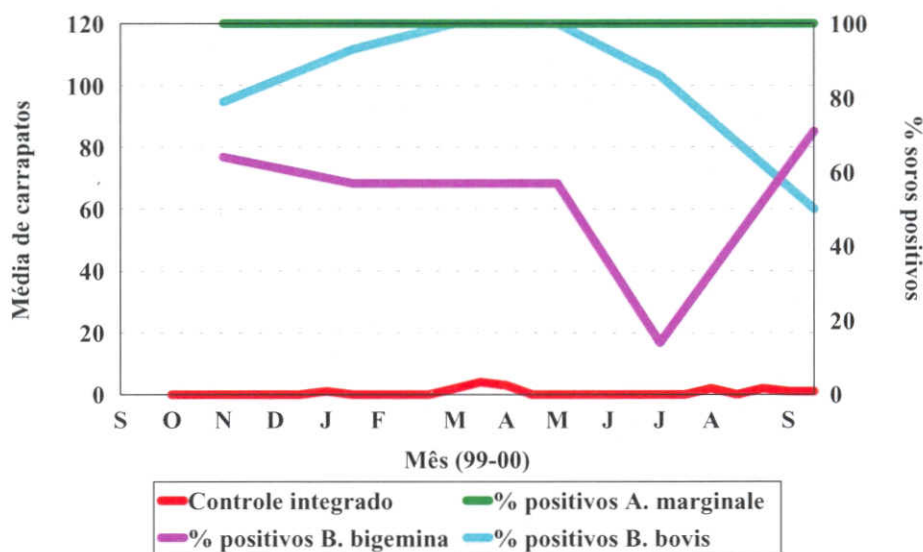


Figura 1. Relação entre o número de carrapatos *B. microplus* do grupo tratado com o controle estratégico integrado e percentual de soros positivos para o *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*.

5.2. GRUPO ANTÍGENO rBm 86 MAIS TRATAMENTOS TÁTICOS CARRAPATICIDAS X AGENTES DA TPB.

Na Figura 2 observamos os resultados dos animais tratados com antígeno rBm 86 mais banhos carrapaticidas com amitraz, o que permitiu a manutenção das três gerações de carrapato ao longo do período experimental, e os resultados sorológicos indicaram que 100% dos animais eram soropositivos para o *A. marginale*, durante todo o período analisado. Com relação à *B. bovis* no início do experimento 77% dos animais eram soropositivos com queda acentuada na dinâmica de anticorpos da classe IgG no mês de janeiro. A presença da 2ª e 3ª

geração de carrapato garantiu taxas de inoculação deste protozoário, o que levou a constatação, ao fim do trabalho que 77% dos animais tinham anticorpos anti-*B. bovis*, portanto, dentro do limite de estabilidade enzoótica proposto por Mahoney (1975).

No que diz respeito à *B. bigemina* 77% dos animais também eram soropositivos no início do experimento, ocorrendo soroconversão negativa até janeiro de 2000, e conforme já descrito anteriormente a presença da 2ª e 3ª geração de carrapato permitiu um aumento da taxa de inoculação, o que determinou que no mês de março houvesse 77% de positivos.

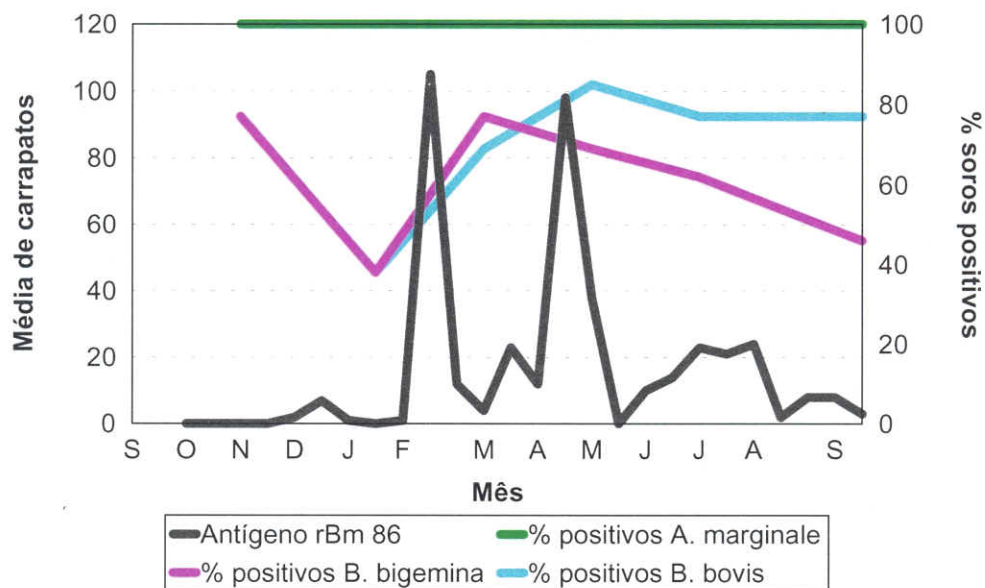


Figura 2. Relação entre número de carrapatos *B. microplus* do grupo tratado com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas e percentual de soros positivos para *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*. Bagé, RS.

A partir do mês de maio decresceu o percentual de animais soropositivos e ao final do trabalho apenas 46% tinham anticorpos anti-*B. bigemina*, determinando uma situação de instabilidade enzoótica.

Trabalhos realizados por Rodríguez et al. (1995) e por Boué et al. (1999) determinaram o efeito da vacina anti-carrapato na transmissão de *B. bovis* como resultado do efeito na infestação de *B. microplus*. No entanto, sabendo que a imunidade induzida por antígenos ocultos atua sobre o estágio adulto do carrapato, pode-se concluir que essa imunidade expressa seus efeitos, diretamente sobre o sistema digestivo e, indiretamente, sobre o sistema reprodutivo do carrapato (Agbede & Kemp, 1986; Kemp et al., 1986; Mora Hernandez et al., 1997, 1999). Portanto, as lesões intestinais podem afetar a ovoposição, por interrupção da digestão ou por bloqueio da síntese de vitelogenina nas células intestinais (Agbede & Kemp, 1986), podendo afetar, dessa forma, a transmissão transovariana da *B. bigemina* (Friedhoff &

Smith, 1981). Esse fato talvez possa justificar os resultados da baixa taxa de inoculação verificadas neste trabalho.

5.3. GRUPO IVERMECTINA 3.15% X AGENTES DA TPB

O uso da ivermectina 3,15% determinou que os animais permanecessem com baixa infestação de carrapatos do 1º ao 3º período (1ª a 3ª geração), evidenciando seu longo poder profilático, como pode ser visto na Figura 3, sendo que alguns instares parasitários começaram a surgir a partir do 4º período (maio e junho).

A presença de 100% de animais soropositivos durante todo o período experimental para o *A. marginale* indica que a baixa infestação de carrapatos não interferiu na resposta imune humoral para essa rickettsia, sugerindo que ocorreu inoculação por outros vetores mecânicos, como os dípteros hematófagos, conforme ocorre em outros países da América do Sul,

como na Argentina, já notificado por De Rios et al. (1990) e Guglielmone (1994).

No início do experimento, 79% dos animais apresentavam anticorpos anti-*B. bovis*, mas como conseqüência da drástica redução da população de carrapatos, ocorreu uma baixa resposta imune humoral, resultando que, ao final do experimento, apenas 36% dos animais fossem soropositivos, determinando uma situação de instabilidade enzoótica. No mês de julho observou-se uma associação significativa positiva ($p=0,011$), pois 83% das respostas positivas encontravam-se na classe 2, conforme pode ser visto na Tabela 11.

No início do experimento, 79% dos animais apresentavam anticorpos anti-*B. bigemina* e a baixa infestação de carrapatos observada durante a 1ª e 3ª geração resultou numa menor taxa de inoculação, o que resultou que, ao final do experimento, apenas 64% dos animais fossem soropositivos a este hemoprotozoário, indicando uma condição de instabilidade enzoótica. No mês de maio, o valor de $p=0,089$, conforme Tabela 16, está muito próximo do nível de significância, o que pode ser uma indicação de associação linear significativa positiva, pois 100% das respostas positivas encontravam-se na classe 2.

O uso de ivermectina longa ação para o controle do carrapato *B. microplus* já foi comprovado por Bordin (1999), Alva et al. (1999) e Bridi et al. (2000) que demonstraram que esse produto quando administrado na dose recomendada de 630 mcg/kg, proporciona um efetivo controle das infestações já estabelecidas e previne o desenvolvimento de carrapatos por 75 dias após o tratamento. No presente experimento, foi comprovado que o uso desse fármaco favoreceu um controle efetivo desse carrapato por tempo superior a 75 dias, o que permitiu uma diminuição da taxa de inoculação de *B. bovis* e *B.*

bigemina. Conseqüentemente, observou-se ao final de um ano de experimento, uma baixa soroprevalência para esses hemoprotozoários, portanto, a aplicação dessa estratégia de controle para o carrapato *B. microplus* nas condições do presente trabalho favoreceu que esses bovinos estivessem em uma situação de instabilidade enzoótica para esses agentes, de acordo com valores já estabelecidos por Mahoney (1962) e Mahoney & Ross (1972).

Waldron & Jorgensen (1999) trabalhando com ivermectin e moxidectin injetável e pour-on em bovinos para o controle do carrapato *B. microplus*, demonstraram que a aplicação desses químicos não interferiram na transmissão de *B. bovis* e *B. bigemina* pelos estádios de larva, ninfa e machos adultos, respectivamente. No entanto, cabe ressaltar que neste trabalho, a ivermectina foi usada na concentração de 3,15%, ou seja, maior que a citada pelos autores acima, portanto, pelo seu longo poder profilático possibilitou um controle mais rigoroso do carrapato *B. microplus*, o que pode ter interferido na inoculação desses hemoprotozoários.

A aplicação desse fármaco em regiões onde a população de carrapato *B. microplus* restringe-se a três gerações, deve seguir algumas recomendações básicas a fim de impedir uma redução drástica nessa população, o que traria, como conseqüência, uma situação de maior instabilidade para os agentes da babesiose bovina. Portanto, alguns cuidados essenciais devem ser seguidos como: a época de aplicação; idade dos animais (observar época de nascimento dos terneiros), principalmente, em relação aos jovens onde a inoculação dos hemoprotozoários deve ser feita através da primeira e segunda geração de carrapato, de forma a estimular a imunidade ativa dos bezerros; "status" imune do rebanho, etc.

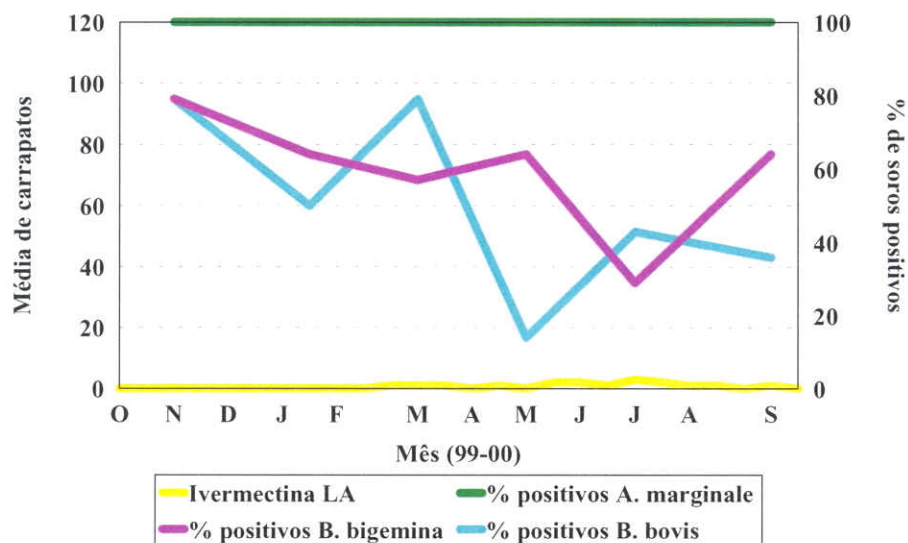


Figura 3. Relação entre número de carrapatos *B. microplus* do grupo tratado com ivermectina 3,15% e percentual de soros positivos para *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*. Bagé, RS.

5.4. GRUPO CONVENCIONAL X AGENTES DA TPB

Os resultados, com relação à contagem de carrapatos do grupo convencional, evidenciaram que as três gerações de *B. microplus* descritas por Alves Branco et al. (1987) foram mantidas nesse grupo, uma vez que os tratamentos carrapaticidas usados permitiram a manutenção do modelo populacional desse carrapato ixodídeo, conforme pode ser visto na Figura 4. O fator que definiu o momento do banho carrapaticida foi o grau de infestação do rebanho, através da visualização de ínstares adultos, situação essa já observada por Rocha (1996). A média de carrapatos observada no primeiro banho carrapaticida foi de 64, no segundo banho 81 e no terceiro banho 66, sendo que os mesmos foram aplicados na 1ª, 2ª e 3ª geração, respectivamente. Em trabalho realizado no estado de MG, com o objetivo de determinar o número de carrapatos que define o momento de aplicação do acaricida nas propriedades, foi determinado que a média geral entre todas as contagens foi de 78,6 carrapatos por animal, portanto, assemelhando-se com o observado no presente estudo (Leite & Rocha, 1999).

O grupo submetido ao controle convencional manteve durante todo o período experimental 100% dos animais com anticorpos anti-*A. marginale*, situação essa também verificada para os grupos citados anteriormente. A falta de associação linear entre as variáveis estudadas deve-se ao fato de todos os animais serem soropositivos no período avaliado.

No início do experimento existiam 71% de animais com anticorpos anti-*B-bovis*, ocorrendo uma soroconversão negativa no mês de janeiro, mas, a partir do mês de março até o período final analisado, todos os animais manifestaram resposta positiva, indicando que esse método de controle manteve uma situação de estabilidade enzoótica.

A dinâmica da resposta imune humoral para a *B. bigemina* foi um pouco distinta da *B. bovis*, uma vez, que através de Figura 4, podemos observar pequenas oscilações ao longo do período estudado. No mês de novembro de 1999, 79% dos animais eram soropositivos, passando para 93% em janeiro e março, com uma queda para 64% em maio, mas chegando a 100% no mês de setembro de 2000, indicando que esse

rebanho encontrava-se em situação estável enzoóticamente.

Os resultados encontrados na região de Eldorado do Sul, com o uso do controle convencional com relação à *B. bovis* (Smith et al., 2000) estão de acordo com os observados nesse trabalho, onde não houve redução significativa da população de carrapato, mantendo uma situação estável para a babesiose bovina. Baseado nos resultados obtidos, pode-se concluir que o efeito do controle do carrapato na estabilidade enzoótica da babesiose depende do método empregado, do tipo de manejo usado, das raças bovinas, da área geográfica analisada, já que todos esses fatores estão intimamente ligados ao ecossistema da *Babesia-Boophilus-Bos*.

Baseado em trabalhos realizados na África, pode-se deduzir que a manutenção da estabilidade enzoótica para *B. bigemina* foi obtida quando o controle dos carrapatos vetores não era realizado de forma tão intensiva, e o inverso ocorria quando os banhos de imersão eram realizados num curto espaço de tempo (De Vos & Every, 1981). É importante ressaltar que, nas condições do presente delineamento experimental, foram usados três banhos carrapaticidas entre a primeira e terceira geração de carrapatos, o que permitiu a manutenção das infestações, garantido a taxa de inoculação de *B. bigemina* e *B. bovis*.

Smith (1983) considerou que a infestação ótima de carrapato *B. microplus* parece estar situada entre 10/40 fêmeas ingurgitadas/animal/dia, o que permitiria a manutenção da estabilidade enzoótica para *B. bovis*. Esse fato pode ser observado para os grupos tratados com o antígeno rBm 86 e convencional para a *B. bovis*. No que diz respeito à *B. bigemina*, essa estabilidade foi obtida apenas para o grupo convencional.

Norton et al.(1983) citam que o efeito na inoculação de *Babesia* spp. decresce de acordo com o tipo de tratamento empregado no controle dos carrapatos vetores, ou seja, medidas profiláticas, tratamentos convencionais, estratégicos e outros. A relação entre o percentual de soropositivos à *B. bigemina* pode sugerir que esse protozoário encontra-se amplamente difundido, tanto no hospedeiro como no carrapato vetor, fato esse citado por Patarroyo et al. (1987). No entanto, pelos resultados encontrados no presente experimento, pode-se inferir que os métodos de controle usados para o carrapato *B. microplus*, interferiram decisivamente para a baixa prevalência de anticorpos anti-*B. bovis* e anti-*B. bigemina*. Essa situação já foi comprovada por Payne & Osorio (1990), que relacionaram as baixas prevalências de IgG à *Babesias* com a ausência ou baixo número de carrapatos do gênero *Boophilus* nos bovinos.

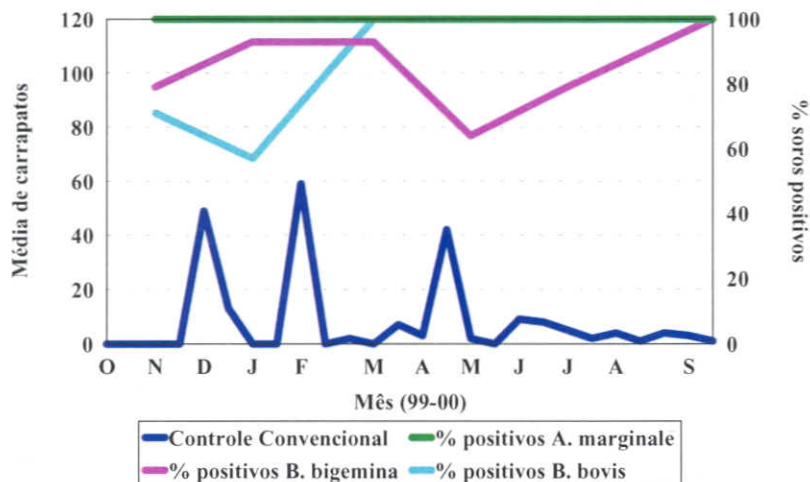


Figura 4. Relação entre número de carrapatos *B. microplus* do grupo tratado com o controle convencional e percentual de soros positivos para *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*.

5.5. GRUPO SUPRESSIVO X AGENTES DA TPB

Nos três primeiros períodos analisados, (novembro-março) foi observado que 100% dos animais eram soropositivos para o *A. marginale* e, de maio a setembro este percentual era de 86, conforme pode ser analisado através da Figura 5. Esse fato merece especial atenção, pois sugere que ocorreu inoculação dessa rickettsia por outros vetores mecânicos, tais como os dípteros hematófagos, já que esses animais encontravam-se livres de infestação pelo carrapato *B. microplus*. Esta situação também foi verificada na Argentina, onde foram observados surtos de anaplasmoze em área livre de carrapato (Guglielmo, 1995). Deve-se também levar em conta que esse grupo foi tratado com amitraz que não tem efeito sobre insetos hematófagos (Kessler, 2001), possibilitando que os mesmos tenham ocorrido sem nenhuma interferência química detectável, permitindo a transmissão mecânica desse patógeno.

Portanto, os resultados indicam que esses bovinos encontravam-se em situação de estabilidade enzoótica, contrapondo os resultados verificados por Kessler (2001) que considerou que a anaplasmoze é estável onde o carrapato *B. microplus* é endêmico e que a situação tende a apresentar um quadro de instabilidade em áreas consideradas marginais para esse carrapato.

A dinâmica da resposta imune humoral para *B. bovis* e *B. bigemina* comportou-se de forma semelhante, pois ao final do experimento nenhum animal apresentava-se positivo, sendo isto perfeitamente justificável, uma vez que a ausência de carrapato traz, como consequência, uma drástica queda na produção de anticorpos, resultado este já comprovado por (Mahoney, 1975; O'Donoghue et al., 1985; Madruga & Araújo, 1998; Kessler & Schenk, 1998).

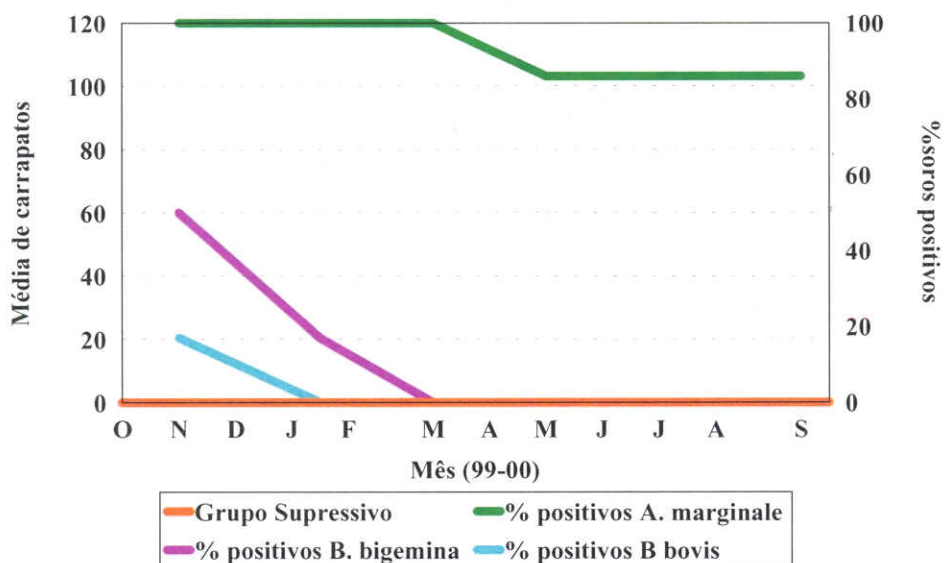


Figura 5. Relação entre número de carrapatos *B. microplus* do grupo supressivo e percentual de soros positivos para *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*. Bagé, RS.

5.6. RESULTADOS DAS REAÇÕES CLÍNICAS PÓS-DESAFIO NOS DIFERENTES GRUPOS AVALIADOS.

Para avaliar a intensidade da reação dos animais frente ao desafio com larvas de carrapatos infectadas com *Babesia* spp., utilizaram-se os seguintes parâmetros:

5.6.1. PARASITEMIA.

Os percentuais das parasitemias para *B. bovis* e *B. bigemina* diagnosticados para todos os grupos estão apresentados nas tabelas 34-37. Com relação ao grupo controle estratégico integrado a máxima parasitemia foi de 0,16% para *B. bovis* duas semanas pós desafio, ocorrendo que, dos 14 animais desafiados desse grupo, oito animais apresentaram parasitemias. No

grupo antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos com amitraz, as parasitemias para ambas espécies de *Babesia* variaram de 0,006 a 0,02; no grupo ivermectin, as variações foram de 0,008 a 0,01 e no grupo convencional os valores situaram-se entre 0,003 a 0,01. Com relação a esses grupos todos os bovinos se recuperaram sem necessidade de tratamentos específicos. Após a fase aguda da infecção ter passado, os animais mantiveram baixas parasitemias de *B. bovis* e *B. bigemina*, concordando com a citação de Trueman & McLennan (1987). No grupo supressivo dos sete animais desafiados, seis tiveram parasitemias com o valor máximo de 0,25% para *B. bovis* em torno de quatro semanas do início do desafio, ocorrendo tratamento em cinco animais do grupo correspondendo a 71,4%.

5.6.2. TEMPERATURA CORPORAL.

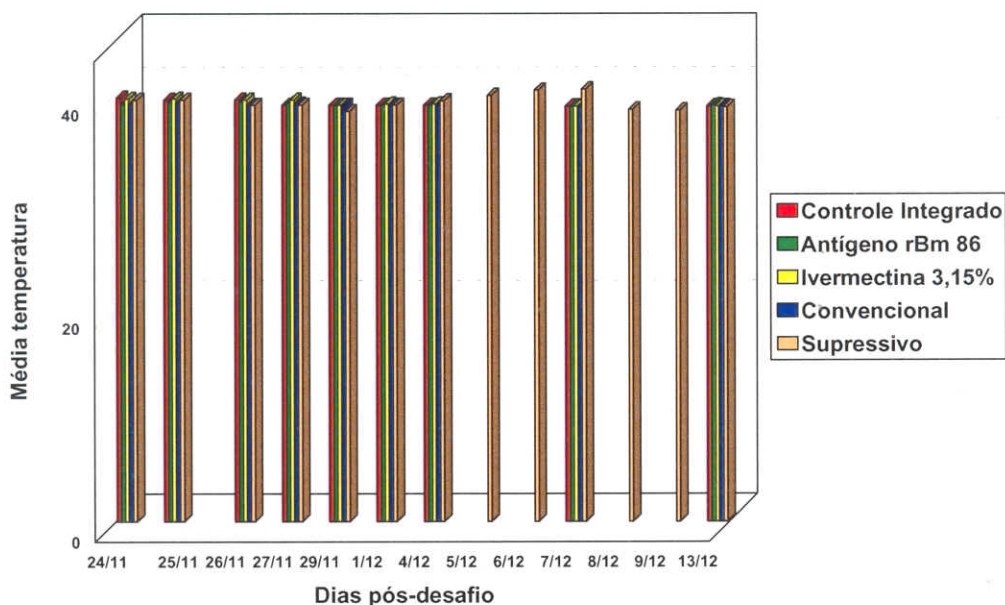


Figura 6. Médias de temperatura corporal dos animais submetidos ao desafio com larvas de carrapato *B. microplus*.

Conforme observado na Figura 6, as médias de temperatura dos grupos experimentais situaram-se dentro dos parâmetros normais e as diferenças estatísticas só foram verificadas na data de 06 de dezembro pelo

teste dms de Fisher ($p < 0,05$), e somente os animais do grupo supressivo tiveram aumentos de temperatura que, associados aos outros parâmetros analisados, indicaram necessidade de tratamento.

5.6.3. VOLUME GLOBULAR

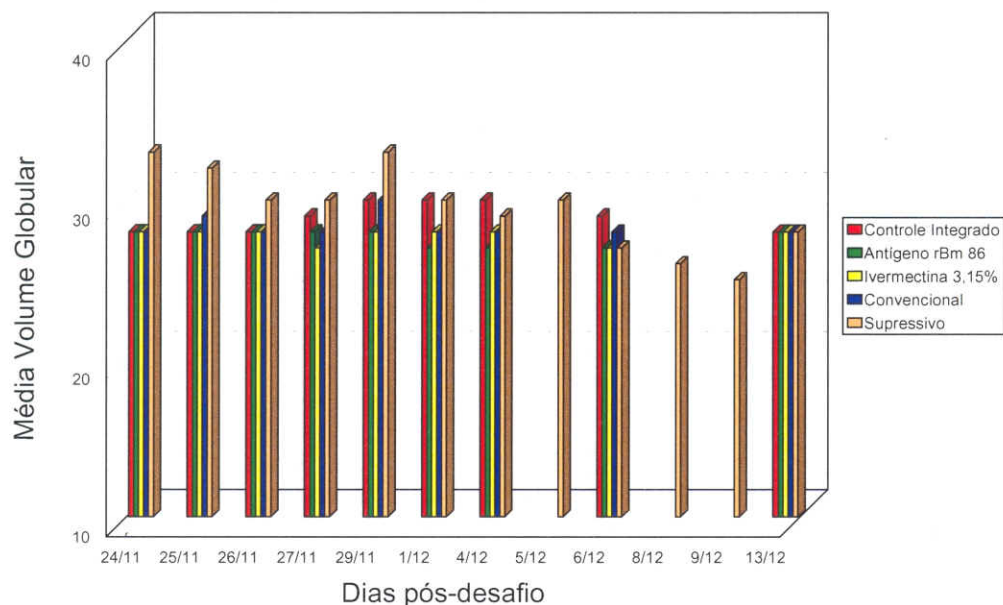


Figura 7. Média do volume globular dos animais submetidos ao desafio com larvas de carrapato *B. microplus*.

Com relação ao VG também foi observado que esses valores situaram-se dentro de uma normalidade, e as diferenças significativas ocorreram apenas nas datas de 29 de novembro e 13 de dezembro pelo teste dms de Fisher ($\alpha=0,05$).

A babesiose não parece ser a causa de mortalidade de bovinos, quando a porcentagem de anticorpos está acima de 80% (Norval et al., 1983), fato esse observado ao final do experimento, apenas para o grupo submetido ao controle convencional no que se refere tanto à *B. bovis* como à *B. bigemina*, embora não tenham ocorrido óbitos durante o trabalho. A ausência de sinais clínicos de babesiose nos grupos onde encontramos uma baixa soropositividade ao final do experimento, talvez possa ser explicada em função de outros mecanismos imunes, tais como os mecanismos inespecíficos, como imunidade

inata (Brow & Palmer, 1999; Brown, 2001) e imunidade celular (Brown & Logan, 1992). No entanto, no grupo supressivo onde ao final do experimento todos os bovinos eram soronegativos para a *B. bovis* e *B. bigemina* após os animais terem sido desafiados com larvas de carrapatos, cinco animais apresentaram sinais compatíveis de babesiose, equivalendo a 71,4% dos animais desse grupo. Dessa maneira podemos supor que a ausência da resposta imune humoral, possivelmente tenha sido um fator determinante para esses quadros clínicos de babesiose. Além disso, o equilíbrio entre imunidade protetora e doença clínica é bastante complexo e pode ser considerado também dependente das práticas de manejo empregadas, das condições climáticas e do controle do vetor. (James et al., 1985).

CAPÍTULO IV

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da revisão de literatura pode-se observar que estudos da ecologia e biologia do carrapato *B. microplus* foram realizados nas mais diversas regiões do País, o que possibilitou a elaboração de modelos populacionais desse carrapato ixodídeo. Esses trabalhos possibilitaram estabelecer a inter-relação com outros fatores do ecossistema, sendo isso essencial para a elaboração de medidas de controle que envolvam o vetor, o agente e o hospedeiro.

As informações obtidas através dos modelos clássicos da epidemiologia deram uma contribuição significativa para o conhecimento da interação entre os carrapatos e as doenças transmitidas por esses artrópodos. Estudos sorológicos da babesiose e anaplasiose bovina foram conduzidos nas diversas regiões do País, abrangendo faixas etárias pré-determinadas. Essas investigações aliadas aos conhecimentos da epizootiologia do carrapato *B. microplus*, do efeito das raças bovinas nas infestações do carrapato, do tipo de exploração e manejo utilizado, permitiram identificar, com certo grau de confiança, as zonas instáveis e estáveis enzoóticamente para esses agentes, determinando as prováveis ocorrências ou não de surtos. Dessa forma, foi possível a elaboração de medidas profiláticas aceitáveis e justificáveis com retorno econômico positivo para as criações bovinas, principalmente na região Sul do Brasil.

A obtenção de técnicas sorológicas com uma maior sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da babesiose bovina e que permitam o estudo mais profundo da relação *Babesia-Boophilus-Bos* tem sido uma busca constante dos países tropicais e subtropicais. Por outro lado, as políticas de desenvolvimento da indústria pecuária buscam a introdução de linhas genéticas melhoradas, como, por exemplo, animais de raças *B. taurus* em zonas onde historicamente o gado crioulo, o vetor e o agente mantinham um quadro de equilíbrio

enzoótico, com poucos casos de doença clínica. Deste modo, torna-se fundamental a identificação dos hemoparasitos presentes, das cepas envolvidas na patogenicidade da enfermidade, da distribuição dos vetores e das espécies envolvidas, a certificação do "status" imune do rebanho e a caracterização das zonas de maior probabilidade de risco.

A variedade de técnicas sorológicas é grande, no entanto, a RIFI tem sido a mais amplamente usada para todas as espécies de *Babesia* spp., apresentando algumas dificuldades, tais como: diferentes níveis de fluorescência, fluorescência inespecífica, rastros de pontos irregulares, subjetividade da leitura, restrição do número de amostras a serem processadas diariamente e, principalmente, a natureza da preparação antigênica, o que, sem dúvida, tem dificultado a padronização dessa técnica sorológica. O ELISA apresenta uma melhor sensibilidade e especificidade em relação à RIFI, podendo ser automatizada, permitindo o processamento de um maior número de amostras. No entanto, um dos pontos ainda discutidos diz respeito à qualidade dos antígenos usados, o que tem sido objeto de pesquisas para a obtenção de antígenos puros, que diminuam a possibilidade de reações inespecíficas. O mais recente avanço para obtenção de antígeno imunodominante e espécie específico, é a produção de proteína recombinante ou sintética, visando produção em alta escala de proteína nativa pura. Ainda existem autores que sugerem o uso de um "cocktail" de dois ou mais antígenos recombinantes para melhorar a sensibilidade do teste.

Os testes diagnósticos de uso internacional devem ser avaliados em regiões endêmicas e também onde eles estão sendo padronizados. Uma forma prática de avaliar e comparar estes testes é o uso de um banco de soros positivos e negativos de algumas regiões endêmicas e não endêmicas. Esse recurso poderia ter um valor inestimável para avaliar a especificidade e sensibilidade para novos testes sorológicos e também possibilitaria a manutenção do desempenho e exatidão dos testes já existentes.

A evolução dos métodos de diagnóstico nas últimas décadas foi significativamente importante, como consequência dos avanços na imunologia, biologia molecular e engenharia genética. Estudos epidemiológicos poderão ser obtidos empregando essas técnicas biomoleculares que poderão melhorar os sistemas de prevenção e controle, permitindo a adoção de medidas profiláticas mais eficazes.

Com relação à anaplasmose, os estudos epidemiológicos são mais complexos e se considera que, mesmo com os avanços das técnicas moleculares, o progresso no conhecimento da interação parasito-hospedeiro-vetor, será mais lento, devido à multiplicidade dos fatores envolvidos. Necessita-se, sem dúvida, de um melhor esclarecimento dos mecanismos de transmissão, tanto relacionados aos carrapatos como aos dípteros hematófagos.

Sabendo da complexidade das doenças transmitidas por carrapatos, algumas linhas de pesquisa sugerem o uso de modelos preditivos para um melhor entendimento da interação entre vetor/hospedeiro/meio ambiente, sob diferentes condições ecológicas.

Um certo número de modelos baseado em dados climáticos tem sido usado para prever a distribuição geográfica do carrapato *B. microplus*. Esses modelos têm sido utilizados para estimar a abundância e distribuição desses vetores, ou prever a possibilidade dos mesmos e das doenças transmitidas se estabelecerem em zonas livres. Alguns estudos nesse sentido vêm sendo realizados com relação às babesias, através de um programa denominado "BABSIM", o que poderá favorecer a formulação de programas regionais de controle, reduzindo a necessidade de estudos de campo.

Um dos modelos que vem sendo utilizado é o "CLIMEX", derivado do termo "climatic index", que tem por objetivo capturar os dados relacionados às condições climáticas para o melhor conhecimento dessas doenças. Esse programa é um modelo espacial designado para extrair o máximo

de informações, como dados geográficos, climáticos, espaciais, distribuição de vetores e outras entidades biológicas. A expectativa é que essas informações permitam a elaboração de novos "insights" que possam possibilitar novas políticas de controle. Esse programa aborda a importância da dinâmica populacional dos vetores no contexto local ou regional, relacionando as trocas climáticas que ocorrem. Essas variações climáticas podem explicar as distribuições geográficas e sazonais das populações alvos.

Os resultados obtidos no presente trabalho revelaram as diferenças quanto à endemicidade dos agentes *B. bovis* e *B. bigemina* em relação às distintas estratégias de controle do carrapato *B. microplus* numa determinada região fisiográfica do RS.

Com relação à *B. bovis*, a condição de estabilidade enzoótica foi obtida para os grupos tratados com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas e convencional, enquanto que o grupo tratado com o controle estratégico integrado e os medicados com ivermectina 3,15% apresentaram situação instável. Situação de estabilidade enzoótica para a *B. bigemina*, somente foi conseguida através do controle convencional, enquanto que os grupos submetidos aos tratamentos estratégico integrado, antígeno rBm86 e ivermectina 3,15% apresentaram ao final do trabalho uma prevalência inferior a 75% de soropositivos, portanto, em situações instáveis enzooticamente para esse hemoprotozoário. O grupo supressivo devido à ausência total de anticorpos anti-*B. bovis* e anti-*B. bigemina*, apresentou uma situação de extrema instabilidade, já que foram os únicos animais a apresentarem doença clínica com necessidade de tratamentos específicos para babesiose.

Com relação ao *A. marginale* ficou evidente que os diferentes métodos de controle para o carrapato *B. microplus* não apresentaram nenhuma interferência na dinâmica da resposta imune humoral, uma vez que, ao longo de experimento, o percentual de soropositivos foi superior a 90%. Esse é um fato extremamente relevante, uma vez que

indica a existência de outros importantes vetores do *A. marginale* nessa região. É necessário, portanto, que mais estudos epidemiológicos sejam feitos para caracterizar os vetores de maior importância e os mecanismos que estão envolvidos na transmissão dessa rickettsia.

Com base nesses resultados e no fato de que o controle do carrapato *B. microplus* no estado do RS, tem sido efetuado sem um adequado critério ou planejamento, pode-se prever que a situação tornar-se-á cada vez mais grave. Pode-se prever, portanto, que os surtos de babesiose bovina ocorrerão com mais intensidade, acarretando maiores índices de morbidade e mortalidade, com

conseqüências desastrosas para a economia gaúcha.

Dessa forma, torna-se fundamental que sejam realizadas novas investigações, em outras regiões fisiográficas, considerando-se diferentes sistemas de manejo, que possam permitir um mapeamento do estado do RS com relação aos diferentes níveis de endemicidade da babesiose e anaplasmoose bovina. Essas pesquisas poderiam fornecer importantes subsídios para a reformulação das estratégias de controle do carrapato *B. microplus* e da TPB de uma forma integrada, planejada e economicamente auto-sustentável.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOYTES, R.; BUENING, G.M.; FIGUEROA, J.V.; VEGA, C.A. El uso de sondas de ADN para el diagnóstico de hemoparásitos. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, v.22, n.3., p.173-181, 1991.
- AGBDE, R.I.S.; KEMP, D.H. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: histopathology of ticks feeding on vaccinated cattle. *Intern. J Parasitol.* Oxford, v. 17, n. 6., p. 35-41, 1986.
- AGUIRRE, D.H.; BERMÚDEZ, A.C.; MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE, A.A. Infección natural com *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en bovinos de raza Hereford, Criolla Y Nelore en Tucumán. *Rev. Med. Vet.*, v.71, p.54-60, 1990.
- AGUIRRE, D.H.; MANGOLD, A.J.; RIOS, L.G., GUGLIELMONE, A.A. Respuesta clínica y evolución del peso corporal en terneras (*Bos taurus*) vacunadas simultaneamente contra babesiosis y anaplasmosis com inmunógenos vivos. *Med. Vet.*, v.8, n.2, p.95-101, 1991.
- AGUIRRE, D.H.; GAIDO, A.B.; VINABAL, A.E., ECHAIDE, S.T.; GUGLIELMONE, A.A.; DE ECHAIDE, S.T. Transmission of *Anaplasma marginale* with adult *Boophilus microplus* ticks fed as nymphs on calves with different levels of rickettsaemia. *Parasite*, v.1, n.4, p.405-407, 1994.
- ALLEN, J.R.; HUMPHREYS, S.J. Immunization of guinea pigs and cattle against ticks. *Nature*, v. 280, p. 491-493, 1979.
- ALVA, R.; CRAMER, L.G.; CARVALHO, L.A.; BRIDI, A.A.; COX, J.L.; SOLL, M.D. The efficacy of ivermectin long – acting (LAI) against ectoparasites of cattle. *Sem. Int. Parasitol. Anim.*, 20-22 de Octubre, 1999, Puerta Vallarta, Jalisco, México, p.171-177, 1999.
- ALVES-BRANCO, F.P.J.; PINHEIRO, A.C.; MACEDO, J.B.R. Prevalência estacional do *Boophilus microplus* em bovinos das raças Hereford e Ibaje. *Med. Vet. Parasitol.*, Centro Nacional de Pesquisas de Ovinos, Embrapa, v.5, p.223-228, 1987.
- ALVES-BRANCO, F.P.J.; PINHEIRO, AC.; SAPPER, M.F.M. Controle do *Boophilus microplus* com esquemas de banhos estratégicos em bovinos Hereford. *Circular Técnica*, n.4, EMBRAPA/CNPO, Bagé, 1989, 28 p.
- ALVES-BRANCO, F.P.J.; PINHEIRO, A.C.; SAPPER, M.F.M. Controle estratégico integrado das helmintoses e do complexo carrapato/Tristeza Parasitária Bovina na região da Campanha do RS. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.6, n.2, supl.1, p.423-430, 1997.
- ANZIANI, O.S. Anaplasmosis en áreas libres de garrapatas. *Memórias Reunión Anual Informe Técnico*. INTA, Rafaela, p.63-68, 1979.
- ARAÚJO, F.R.; MADRUGA, C.R.; ALMEIDA, M.A.O.; LEAL, C.R.B.; MIGUITA, M. Levantamento sorológico de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* no estado da Bahia pela imunofluorescência indireta e teste de congutinação rápida. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.6., n.2., p.111-115, 1997.
- ARAÚJO, F.R.; MADRUGA, C.R.; C.R.; LEAL.; BASTOS, P.A.S.; MARQUES, A.P.C.. Freqüência de anticorpos anti- *Anaplasma marginale* em rebanhos leiteiros da Bahia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.50, n.3, p.243-246, 1998a.
- ARAÚJO, F.R.; MADRUGA, C.R.; LEAL, C.R.; SCHENK, M.A.M.; KESSLER, R.H.; MARQUES, A.P.C.; LEMAIRE, D.C. Comparasion between enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody and rapid congutination tests in detecting antibodies against *Babesia bovis*. *Vet. Parasitol.*, v.74, n.2-4, p.101-108, 1998b.

- ARDINGTON, P.C. The benefits of intensive tick control. *Proceed. of a Symposium on Ectoparasites of Cattle*, Pretoria, p. 136-140, 1982.
- ARTILES, J.; ALVES BRANCO, F.P.J.; MARTINS, J.R.; CORREA, L.B.; SAPPER, M.F.M. Prevalência de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* no município de Bagé, RS. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.4, n.2, supl.1, p.179, 1995.
- BARRIGA, O. A review on vaccination against protozoa and arthropods of veterinary importance. *Vet. Parasitol.*, v.55, p.29-55, 1994.
- BARRY, D.N.; RODWELL, B.J.; TIMMS, P.; MCGREGOR, W. A microplate enzyme immunoassay for detecting and measuring antibodies to *Babesia bovis* in cattle serum. *Aust. Vet. J.*, v.59, p.136-140, 1982.
- BARRY, D.N.; PARKER, R.J.; DE VOS, A.J.; RODWELL, B.J. A microplate enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibody to *Anaplasma marginale* in cattle serum. *Aust. Vet. J.*, v.3, p.76-79, 1986.
- BETANCOURT, A. Experiencias colombianas em bioecologia y control de la garrapata *Boophilus microplus*. *Proc. Consulta de Expertos Sobre la Erradicación de Las Garrapatas con Referencia Especial a las Americas*, FAO, Mexico, 22-26 junio, 1987.
- BIGGS, H.C.; LANGENHOVEN, J.W. An anaplasmosis seroconversion study of calves subjected to different tick control on a farm in the windhoek district of South West Africa. *Proceed. of the 13 World Congress on Diseases of Cattle*, Durban, p. 484-487, 1984.
- BOCK, R.E.; DE VOS, A.J.; LEW, A.; KINGSTON, T.G.; FRASER, I.R. Studies on failure of T strain live *Babesia bovis* vaccine. *Aust. Vet. J.*, v.72, n.8, p.296-300, 1995.
- BORDIN, E.L. Ivomec Gold – Uma Opção no Controle Integrado de Parasitos. In: *Seminário Brasileiro De Parasitologia Veterinária, Xi, Seminário De Parasitologia Veterinária Dos Países Do Mercosul, li E Simpósio De Controle Integrado De Parasitos De Bovinos, II*, 1999, Salvador, *Anais...* Salvador, 1999, p.67.
- BÖSE, R.; JACOBSON, R.H.; GALE, K.R.; WALTISBUHL, D.J.; WRIGHT, I.G. An improved ELISA for the detection of antibodies against *Babesia bovis* using either a native or a recombinant *Babesia bovis*. *Parasitol. Res.*, v.76, p.648-, 1990.
- BÖSE, R.; JORGENSEN, W.K.; DALGLIESH, R.J.; FRIEDHOFF, K.T.; DE VOS, A.J. Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Vet. Parasitol.* v.57, p.61-74, 1995.
- BOUÉ, O.; REDONDO, M.; MONTERO, C.; RODRIGUEZ, M.; DE LA FUENTE, J. Reproductive and safety assessment of vaccination with Gavactm against the cattle tick *Boophilus microplus*. *Theriogenology*, v.51, p.1547-1554, 1999.
- BRAM, R.A. Integrated control of ectoparasites. In: *Ectoparasites of animals and control methods*. *Rev. Sci. Techn. Off. Epiz.*, v 13, p.1357-1365, 1994.
- BRIDI, A.A.; CARVALHO, L.A.; CRAMER, L.G.; LANGHOFF, W.K. Weight gain of beef cattle in a one year parasite control program using Ivomec Gold. XXI World Buiatrics Congress of the World Association for Buiatrics. Punta del Este, p.51-60, 2000.
- BRIZUELA, C.M.; ORTELLADO, C. A.; SANCHEZ, T.I.; OSORIO, O.; WALKER, A.R. Formulation of integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay: analysis of natural infestations. *Vet. Parasitol.*, v.63, p.95-108, 1996.
- BROWN, W.C.; LOGAN, K.S. *Babesia bovis*: bovine helper T cell lines reactive with soluble and membrane antigens of merozoites. *Exp. Parasitol.*, v.74, p.188-199, 1992.

- BROWN, W.C.; PALMER, G.H. Designing blood-stage vaccines against *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. *Parasitol. Today*, v.15, p.275-281, 1999.
- BROWN, W.C. Molecular approaches to elucidating innate and acquired immune responses to *Babesia bovis*, a protozoan parasite that causes persistent infection. *Vet. Parasitol.*, v.101, p.233-248, 2001.
- CALLOW, L.L.; DALGLIESH, R.J. The development of effective, safe vaccination against babesiosis and anaplasmosis in Australia. In: *Ticks and Tick Borne Diseases*. JOHNSTON, L.A.Y.; COOPERS, M.G.(ed.). Proc. Symp. 56th Ann. Conf. Aust. Vet. Assoc., Townsville, 1979. Aust. Vet. Assoc., Sydney. p. 4-8, 1980.
- CARDOZO, H.; NARI, A.; FRANCHI, M.; LÓPEZ, A.; DONATTI, N. Estudios sobre la ecología del *Boophilus microplus* en tres áreas enzoóticas del Uruguay. (Ecological studies of *Boophilus microplus* in three enzootic areas of Uruguay). *Ecological Studies of Veterinary*, v.20 n.87, p.4-10, 1984.
- CORREIA, A.C.B.; FIORIN, A.C.; MONTEIRO, A.C.; VERÍSSIMO, C.J. Effects of *Metarhizium anisopliae* on the tick *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae) in stabled cattle. *J. Invertebr. Pathol.*, v.71, p.189-191, 1998.
- COURT, R.A.; JACSON, L.A.; LEE, R.P. Elevated anti-parasitic activity in peripheral blood monocytes and neutrophils of cattle infected with *Babesia bovis*. *Int. J. Parasitol.*, v.19, p.29-37, 2001.
- DALGLIESH, R. J.; STEWART, N.P. Stimulation of the development of infective *Babesia bovis* in unfed *Boophilus microplus* larval. *Aust. Vet. J.*, v.52, p.543, 1976.
- DALGLIESH, R.J.; STEWART, N.P.; CALLOW, L.L. Transmission of *Babesia bigemina* by transfer of adult male *Boophilus microplus*. *Aust. Vet. J.*, v.54, p-205-206, 1978.
- DALGLIESH, R.J.; STEWART, N.P. Observations on the morphology and infectivity for cattle of *Babesia bovis* parasites in unfed *Boophilus microplus* larvae after incubation at various temperatures. *Int. J. Parasitol.*, v.9, p.115-120, 1979.
- DALGLIESH, R.J.; JORGENSEN, W.K.; DE VOS, A.J. Australian frozen vaccines for the control of babesiosis and anaplasmosis in cattle – a review. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* V.22, p. 44-52, 1990.
- DALGLIESH, R.J. Babesiosis. In: WARREN, K.S. ed. Immunology and molecular biology of parasitic infections. 3rd ed. Boston: Blackwell, 1993, p.352-383.
- DE ECHAIDE, S.T.; KNOWLES, D.; MCGUIRRE, T.C.; PALMER, G.H.; SUAREZ, C.E.; McELWAIN, T.F. Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant major protein 5. *J. Clin. Microbiol.*, v.36, p.777-782, 1998.
- DE RIOS, L.G.; AGUIRRE, D.H.; GAIDO, A.B. Infección natural por *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en dos rodeos bovinos com diferentes niveles de infestación por *Boophilus microplus*. *Rev. Latinoamer. de Microbiol.*, v.31, p.39-43, 1989.
- DE RIOS, L.G.; AGUIRRE, D.H.; GAIDO, A.B. Infection naturelle par *Anaplasma marginale* chez deux troupeaux de bovins avec differents niveaux d'infestation par la tique *Boophilus microplus*. *Rev. D'Elevage des Pays Tropicaux*, v.43, p.447-452, 1990.
- DE VOS, A.J.; EVERY, R. Epidemiology and control of bovine babesiosis in the Natal Midlands. *Proceed. of International Congress on tick Biology and Control*, Rhodes University, Grahamstown, p. 33-39, 1981.

- DE VOS, A.J.; COMBRINK, M.P.; BESSENG, R. *Babesia bigemina* vaccine: Comparison of the efficacy and safety Australian and South African strains under experimental conditions in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v.49, p.155, 1982.
- EMBRAPA. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS (Rio de Janeiro, R.J). Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: Embrapa Produção de Informação; RJ: EMBRAPA/SOLOS. 1999, 412 p.
- EVANS, D. Tick infestation of livestock and tick control methods in Brazil: a situation report. *Insect. Sci. Applie.*, v.13, n.4., p.629-643, 1992.
- EVANS, D.E.; MARTINS, J.R.; GUGLIELMONE, A.A. A review of the Ticks (Acari, Ixodida) of Brazil, their hosts and Geographic Distribution - 1. The State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.95, n.4, p.453-470, 2000.
- FIGUEROA, J.V.; GOFF, W.L.; JASMER, D.P. Detection of *Babesia bovis* carrier cattle by using polimerase chain reaction amplification of parasite DNA. *J. Clin. Microb.*, v.30, p.1374-1379, 1992.
- FRAZZON, A.P.G.; VAZ JUNIOR, I.S.; MASUDA, A.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M.H. In vitro assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.*, v.94, p.117-125, 2000.
- FRIEDHOFF, K.T.; SMITH, R.D. Transmission of *Babesia* by ticks. In: *Babesiosis*. Ristic, M., Kreier, J.P., p.267-321, New York, 1981.
- FURLONG, J.; MARTINS, J.R.S. Resistência a carrapaticidas. *Circular Técnica, EMBRAPA-CNPGL*, n.59, 25 p., 2000.
- GIRARDI-DEIRO, A.M.; GONÇALVES, J.O.N.; GONZAGA, S.S. Campos naturais nos diferentes tipos de solo no Município de Bagé, RS. 2: fisionomia e composição florística. *Iheringia*, v.42, p.55-79, 1992.
- GOFF, W.L.; WINWARD, L.D. Detection of geographic isolates of *Anaplasma marginale*, using polyclonal bovine antisera microfluorometry. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, n.11, p.2399-2400, 1985.
- GOFF, W.L.; STILLER, D.; ROEDER, R.A.; JOHNSON, L.W.; FALK, D.; GORHAN, J.R.; MCGUIRE, T.C. Comparison of DNA probe, complement-fixation and indirect immunofluorescent tests for diagnosis *Anaplasma marginale* in suspected carrier cattle. *Vet. Microb.*, v.24, p.381-390, 1990.
- GONÇALVES RUIZ, P.M.; PASSOS, L.M.; RIBEIRO, M.F.B. Detction of IgM antibodies against *Babesia bovis* in cattle. *Vet. Parasitol.*, v.82, p.11-17, 1999.
- GONÇALVES RUIZ, P.M.; PASSOS, L.M.; MACHADO, R.Z.; LIMA, J.D.; RIBEIRO, M.F.B. Development of an Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Babesia bigemina* in cattle. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.96, n.2, p.237-240, 2001.
- GONZALES, J.C. O controle do carrapato bovino *Boophilus microplus*. II CURSO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, Anais..., 01 a 05 de agosto de 1988. p.107-109., 1988.
- GONZALES, J.C. *Boophilus microplus* (Can. 1887) em Santa Vitória do Palmar, RS: estudo histórico geográfico do ambiente; análise do sistema de produção relativa ao controle do carrapato; análise técnico-científico de perenização. 453p, Tese (Doutorado) - Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1992.

- GONZALES, J.C.; MUÑIZ, R.A.; FARIAS, A.; GONÇALVES, L.C.B.; REW, R.S. Eficácia terapêutica e persistência de Doramectin contra *Boophilus microplus* em bovinos. *Vet. Parasitol.*, v.49, p.107-119, 1993.
- GORDON, H.McL. Some aspects of the control of helminthosis in sheep. *Vet. Inspection*, v.31, p.88-89, 1967.
- GRISI, L.; MASSARD, C.L.; MOYA-BORJA, G.E.; PEREIRA, J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, n.125, p.8-10, 2002.
- GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J.A. Anaplasmosis: situación actual de la Argentina The eradication of ticks. *Proceed. of the Expert Consultation of the Eradication of Ticks with Special Reference to Latin America*, Mexico City, Mexico, 22-26 June, 1987, p:315-322.
- GUGLIELMONE, A.A.; GAIDO, A.B.; MANGOLD, A.J.; AGUIRRE, D.H. El diagnóstico de microorganismos en la hemolinfa de la garrapata *Boophilus microplus* y su aplicación a la epizootiología de la babesiosis bovina. *Mem. 3rd Reunión Assoc. Arg. Vet. Lab. Diag.*, December, 1988, Balcarce, Argentina, p.18-19.
- GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J.; AGUIRRE, D.H.; GAIDO, A.B.; OLSEN, A.A. The effect of infection by *Babesia* spp. on some biological parameters of engorged female of *Boophilus microplus*. *Folia Parasitol.*, v.36, p.1-6, 1989.
- GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J.; AGUIRRE, D.H.; GAIDO, A.B. Vacunas congeladas contra la babesiosis y la anaplasmosis de los bovinos: viabilidad luego de la descongelación. *Rev. Cub. Cienc. Vet.* v.22, n.3., p.233-240, 1991.
- GUGLIELMONE, A.A. Epidemiología y prevención de los hemoparasitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en la Argentina. In: NARI, A., FIEL, C. *Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. bases epidemiológicas para su prevención y control*. Montevideo :Ed. Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L., 1994. p. 461-479.
- GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J. Anaplasmosis. In: A. DE DIEGO (Editor). *Enfermedades de los bovinos*. Fasc., 3, Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 1994.
- GUGLIELMONE, A.A. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Vet. Parasitol.*, v.57, p.109-119, 1995.
- GUGLIELMONE, A.A.; ABDALA, A.A.; ANZIANI, A.; MANGOLD, A.J.; VOLPOGNI, M.M.; VANZINI, V.R. Different seasonal occurrence of anaplasmosis outbreaks in beef and dairy cattle in an area of Argentina free of *Boophilus microplus* ticks. *Vet. Quart.*, v.19, n.1., p.32-33, 1997a.
- GUGLIELMONE, A.A.; LUGARESI, C.I.; VOLPOGNI, M.M.; ANZIANI, A.; VANZINI, V.R. Babesial antibody dynamics after cattle immunisation with live vaccines, measured with an indirect immunofluorescent test. *Vet. Parasitol.*, v.70, p.33-39, 1997b.
- HABICH, G.E., RIOS, L.DE G., HADANI, A., CONDRON, R.J., HAAN, L. DE, BROADBENT, D.N. Estudios sobre sanidad animal en el noroeste argentino VII. Prevalencia de animales con anticuerpos sericos contra *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale* en tambos de Catamarca, Salta y Tucumán. *Rev. Med. Vet.*, v.63, p.316-319, 1982.
- HEMMER, R.M.; FERRICK, D.A.; CONRAD, P.A. Role of T cells and cytokines in fatal and resolving experimental babesiosis: protection in TNFR p55^{-/-} mice infected with the human *Babesia* WA1 parasite. *J. Parasitol.*, v.86, p.736-742, 2000.

- HITCHCOCK, L.F. Studies on the parasitic stages of the cattle tick *Boophilus microplus*. *Aust. J. Zool.* p.145-155, 1954.
- HITCHCOCK, L.F. Studies of the non parasitic stages of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae). *Aust. J. Zool.*, v.3, p.295-311, 1955.
- HORN, S.C., ARTECHE, C.C.P. Situação parasitária da pecuária no Brasil. *A Hora Veterinária*, v.23, p.12-32, 1985.
- HORN, S.C. Bovine ectoparasites and Their Economic Impact in South America. In: *Proceed. of the MSD AGVET, Symp. in Assoc. the. XXIII World Vet. Congress*, Montreal, Quebec, Canadá, p.25-27, 1987.
- IVANCOVICH, J.C.; BRAITHWAITE, G.B.; BARNET, S.F. Comportamiento de los estados no-parasitarios de la garrapata del ganado *Boophilus microplus*. *Bol. Est. Exp. Reg. Agropec. Pres. Roque Sáenz Peña*, v.88, p.4-109, 1984.
- JAMES, M.A.; CORONADO, A.; LOPEZ, W.; MELENDEZ, R.; RISTIC, M. Seroepidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Venezuela. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, v.17, p.9-18, 1985.
- JOHNSTON, L.A.Y. The incidence of clinical babesiosis in cattle in Queensland. *Aust. Vet. J.*, v.44, p.265, 1968.
- JOHNSTON, L.A.; KEMP, D.H.; PEARSON, R.D. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: feeding and survival of the parasite on vaccinated cattle. *Int. J. Parasitol.*, v.16, n.2, p.115-120, 1986.
- KAY, B.H.; KEMP, D.H. Vaccines against arthropods. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* v.50, n.6, p.87-96, 1994.
- KEMP, D.H.; AGBEDE, R.I.S.; JOHNSTON, L.A.Y.; GOUGH, J.M. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: feeding and survival of the parasite on vaccinated cattle. *Int. J. Parasitol.*, v.16, n.2, p.115-120, 1986.
- KESSLER, R.H.; MADRUGA, C.R.; JESUS, E.F.; SEMPREGOM, D.V. Isolamento de cepas de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em área enzoótica. *Pesq. Vet. Bras.*, v.22, n.7, p.747-752, 1987.
- KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M.; MADRUGA, C.R.; SACCO, A.M.S.; MIGUITA, M. Tristeza Parasitária Bovina (TPB). In: CHARLES, T.; FURLONG, J. *Doenças parasitárias dos bovinos de leite*. Coronel Pacheco, EMBRAPA/CNPGL, 1992. p.1-30.
- KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M. *Tristeza Parasitária dos Bovinos (TPB): conceito, etiologia, transmissão, epidemiologia, diagnóstico e controle*. In: KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M. Carrapato, Tristeza Parasitária e Tripanossomose dos bovinos. Campo Grande: EMBRAPA/CNPGL, 1998. p. 47-67.
- KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M.; MADRUGA, C.R.; GOMES, A. Viability of a method for the isolation of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* to create a strain bank from five physiographical regions of Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.7, n.2., p.92-94, 1998.
- KESSLER, R.H. Considerações sobre a transmissão do *Anaplasma marginale*. *Pesq. Vet. Bras.*, v.21, n.4, p.177-179, 2001.
- KROLOW, R.P.; BRITTO, C.F.; RUAS, J.L.; SANTOS, T.B.; BERNE, M.E.A.; SACCO, A.S.S.; FARIAS, N.A. *Babesia bovis*: Imunidade colostrar, primoinfecção e resposta imune em bovinos naturalmente infectados, no Rio Grande do Sul. XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Rio de Janeiro, setembro de 2002. CD Rom.
- KOCAN, K.M.; HAIR, J.A.; EWING, S.A. Ultrastructure of *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910) in *Dermacentor andersoni* (Stiles) and *Dermacentor variabilis* (Say). *Am. J. Vet. Res.*, v.41, p.1966-1976, 1980.

- KOCAN, K.M.; EWING, S.A.; HOLBERT, D.; HAIR, J.A. Morphology characteristics of colonies of *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910) in midgut epithelial cell of *Dermacentor andersoni* (Stiles). *Am. J. Vet. Res.*, v.43, p.586-593, 1982.
- KOCAN, K.M.; STILLER, D; GOFF, W.L.; EDWARDS, W.E.; WICKWIRE, K.B.; STICH, R.W.; YELLIN, T.N.; EWING, S.A.; PALMER, G.H.; BARRON, S.J.; HAIR, J.A.; MCGUIRE, T.C. The developmental cycle of *Anaplasma marginale* in *Dermacentor* spp.. Proc. 8th Nat. Hemoparasite Disease Conf., St. Louis, p.149-160, 1989.
- LEITE, A.M.O. *Prevalência sorológica de Babesia bigemina e Babesia bovis em 33 propriedades na zona Sul do Rio Grande do Sul*. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1988, 67p.
- LEITE, R.C.; MUNIZ, R.A.; OLIVEIRA, P.R.; GONÇALVES, L.C.B.; REW, R.S. Efficacy of doramectin against natural infestations of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in cattle. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.4, n.1, p.53-56, 1995.
- LEITE, R.C.; ROCHA, C.M.B.M. Contagem de carrapatos em bovinos no momento do banho carrapaticida em rebanhos leiteiros. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.51, n.1, p.41-42, 1999.
- LEVY, M.G.; CLABAUGH, G.; RISTIC, M. Age resistance in bovine babesiosis. Role of blood factors in resistance to *Babesia bovis*. *Infect. Immun.*, v.37, p.1127-1131, 1982.
- MACHADO, P.T.P. Conjuntura Agropecuária. In: FARSUL. *Jornal Sul Rural*, n.228, ano 16, set 2002, p.10.
- MADRUGA, C.R.; AYCARDI, E.; KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M.; FIGUEIREDO, G.R.; CURVO, J.B.E. Níveis de anticorpos anti *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bezerros da raça Nelore, Ibaje e cruzamentos de Nelore. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v.19, n.9, p.1163-1168, 1984.
- MADRUGA, C.R.; KESSLER, R.H.; GOMES, A.; SCHENK, M.A.M.; ANDRADE, D.F. de. Níveis de anticorpos e parasitemia de *Anaplasma marginale* em área enzoótica, nos bezerros da raça Nelore, Ibaje e cruzamentos de Nelore. *Pesq. Agrop. Bras.*, Brasília, v.20, n.1, p.135-142, 1985.
- MADRUGA, C. R.; BERNE, M.E.A.; KESSLER, R.H.; GOMES, R.F.C.; LIMA, J.G.; SCHENK, M.A.M. Diagnóstico da Tristeza Parasitária Bovina no Estado de Mato Grosso do Sul: inquérito de opinião. Fundação Cargill, 1986a, 40 p. il. (EMBRAPA-CNPGC. Circular Técnica, nº18).
- MADRUGA, C. R.; KESSLER, R.H.; JESUS, E.F.; SETE, A.J. Imunofluorescência indireta para diagnóstico sorológico de *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*: produção de antígeno com cepas isoladas no estado do Mato Grosso do Sul e avaliação preliminar do teste. *Pesquisa em Andamento*, n.32, p. 1-4, EMBRAPACNPGC, Campo Grande, 1986b.
- MADRUGA, C.R.; HONER, M.R.; SCHENK, M.A.; CURVO, J.B. Avaliação preliminar de parâmetros epidemiológicos da Tristeza Parasitária Bovina no Mato Grosso do Sul. *Pesquisa em Andamento*, n.38, EMBRAPA/CNPGC, Campo Grande, 1987.
- MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F.R. *Diagnóstico sorológico da Tristeza Parasitária Bovina*. In: KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M. Carrapato, Tristeza Parasitária e Tripanossomose dos bovinos. Campo Grande: EMBRAPA/CNPGC, 1998, p.91-108.
- MADRUGA, C.R.; KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.; MIGUITA, M. A conglutination test for rapid detection of antibodies against *Babesia bigemina*. *Pesq. Vet. Bras.*, v.20, n.4, p.161-166, 2000a.

- MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F.R.; MARQUES, A.P.C.; CARVALHO, C.M.E.; CUSINATO, F.Q.; CROCCI, A.J.; KESSLER, R.H.; MIGUITA, M. Desenvolvimento de uma prova de imunoadsorção enzimática para detecção de anticorpos contra *Babesia bovis*. *Pesq. Vet. Bras.*, v.20, n.4, p.167-170, 2000b.
- MADRUGA, C.R.; MARQUES, A.P.C.; LEAL, C.R.B.; CARVALHO, C.M.E.; ARAÚJO, F.R.; KESSLER, R.H. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against *Anaplasma marginale*. *Pesq. Vet. Bras.*, v.20, n.3, p.109-112, 2000c.
- MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F.R.; SOARES, C.O. *Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária*. Campo Grande, Embrapa Gado de Corte, 360p, 2001.
- MAGALHÃES, F.E.P.; LIMA, J.D. Controle estratégico do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina : Ixodidae) em bovinos da região de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.43, n.5, p.423-431, 1991.
- MAHONEY, D.F. The epidemiology of babesiosis in cattle. *Aust. J. Sci.*, v.24, p.310-313, 1962.
- MAHONEY, D.F. Bovine babesiasis: a study of factors concerned in transmission. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v.63, n.1, p.1-13, 1969.
- MAHONEY, D.F.; ROSS, D.R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Aust. Vet. J.*, v.48, p.292-298, 1972.
- MAHONEY, D.F. The application of epizootiological principles in the control of Babesiosis in cattle. *Bull. Off. Int. Epiz.*, v.81, n.1-2, p-123-138, 1974.
- MAHONEY, D.F. The diagnosis of babesiosis in Australia. In: *Workshop on Hemoparasites*, Cali, 1975. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical, p.49-62, 1975.
- MAHONEY, D.F.; KERR, J.D.; GOODGER, B.V.; WRIGHT, I.G. The immune response of cattle to *Babesia bovis* (syn. *B. argentina*): studies on the nature and specificity of protection. *Int. J. Parasitol.*, v.9, p.297-306, 1979.
- MAHONEY, D.F.; MIRRE, G.B. A note on the transmission of *Babesia bovis* (syn. *B. argentina*) by the one-host tick, *Boophilus microplus*. *Res. Vet. Sci.*, v.26, p.253-254, 1979.
- MANGOLD, A.J.; MARTINO, J.C.; VIÑABAL, A.E.; GAIDO, A.B.; AGUIRRE, D.H.; GUGLIELMONE, A.A. Efecto de la flumetrina aplicada por derrame dorsal para el controle de infestaciones naturales de *Boophilus microplus* (Canestrin, 1887). *Vet. Arg.* v.5, p. 108-115, 1988.
- MANGOLD, A.J.; AGUIRRE, D.H.; GUGLIELMONE, A.A. Post-thawing viability of vaccines for bovine babesiosis and anaplasmosis cryopreserved with glycerol. *Vet. Parasitol.*, v.37, p.301-306, 1990.
- MARTINS, J.R.; CORREA, B.L.; CEREZER, V.H.; ARTECHE, C.C.P.; GUGLIELMONE, A.A. Some aspects of the epidemiology of *Babesia bovis* in Santana do Livramento, Southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.3, n.2, p. 75-78, 1994.
- MARTINS, J.R.; CEREZER, V.H.; CORREA, B.L.; ARTECHE, C.C.P. *O controle correto do carrapato*. FEPAGRO, Circular Técnica, n.5, Porto Alegre, RS – Brasil, 10 p., 1995.
- MARTINS, J.R.; CORREA, B.L.; CEREZER, V.H. Estudo comparativo entre as provas de ELISA e imunofluorescência indireta para detectar anticorpos contra *Babesia bovis*. *Ciênc. Rur.*, v.26, n.1, p.115-118, 1996.
- MASSARD, C.L. Sanidade Animal: tristeza parasitária dos bovinos. *A Hora Veterinária*, n.54, p.10-13, 1990.

- MASSARD, C.L.; FONSECA, A.H.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; OLIVEIRA, J.B.; SILVA, K.M.M. Avaliação da eficácia da vacina recombinante GAVAC, contra o carrapato no Brasil. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.17, n.4, p.167-179, 1995.
- MASON, C.A.; NORVAL, R.A.I.; The transfer of *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae) from infested to uninfested cattle under field conditions. *Vet. Parasitol.*, v.8, p.185-188, 1981.
- MASUDA, A.; VAZ JUNIOR, I.S.; OZAKI, L.S. Vacinas contra o carrapato *Boophilus microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.4, n.2, supl. 1, p. 321-326, 1995.
- McCOSKER, P. J. *The global importance of babesiosis*. In: RISTIC, M., KREIER, J. P. Babesiosis. New York: Academic Press, Inc., 1981. Cap 1, p. 1-24.
- MELO, V.S.P.; PASSOS, L.M.F.; FACURY-FILHO, E.J.; SATURNINO, H.M.; RIBEIRO, M.F.B. Natural infection of calves by *Anaplasma marginale* in dairy herds of the Metalurgica Region, Minas Gerais. *Pesq. Vet. Bras.*, v.21, n.4, p.146-150, 2001
- MONTEIRO, S.G.; CARNEIRO, M.E.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; DAEMON, E. Efeito do isolado 986 do fungo *Beauveria bassiana* sobre fêmeas ingurgitadas de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari:Ixodidae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.50, p. 673-676, 1998a.
- MONTEIRO, S.G.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. Efeito dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* em ovos de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari:Ixodidae). *Ciênc. Rur.*, v.28, p.461-466, 1998b.
- MONTENEGRO-JAMES, S.; GUILLEN, A.T.; J. Ma.; TAPANG, P.; ABDEL-GAWAD, A.; TORO, M.; RISTIC, M. Use of the dot enzyme-linked immunosorbent assay with isolated *Anaplasma marginale* initial bodies for serodiagnosis of anaplasmosis in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, v.51, n.10, p.1518-1521, 1990.
- MORA HERNÁNDEZ, C.A. *Avaliação a campo do imunógeno recombinante rBm 86 no controle do carrapato Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) no Brasil. Tese (Doutorado), Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1996, 100p.
- MORA HERNÁNDEZ, C.A.; MASSARD, C.L.; SOARES, C.O.; FONSECA, A.H. Alterações histológicas do trato digestivo do *Boophilus microplus* pela ação de anticorpos anti-rBm86. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.6, n.1, p-33-37, 1997.
- MORA HERNÁNDEZ, C.A.; MASSARD, C.L.; SOARES, C.O.; FONSECA, A.H. Influência do antígeno vacinal rBm86 sobre os parâmetros biológicos da fase não parasitária do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, v.6, n.1, p-26-30, 1999.
- NARI, A.; SOLARI, M.A.; CARDOZO, H. Hemovacuna para el control de *Babesia* spp y *Anaplasma marginale* en el Uruguay. *Veterinaria*, v.15, p.137-148, 1979.
- NARI, A. Methods currently used for the control of one host ticks: their validity and proposals for future control strategies. *Parasitologia*, v.32, p.133-143, 1990.
- NARI, A. Control y prevención de enfermedades parasitarias. In: S. FERNANDEZ-BACA. Avances en la producción de leche y carne en el Tropicó Americano, Santiago de Chile: FAO, 1992, cap.10, p. 405-466.
- NARI, A. Strategies for the control of one host ticks and relationship with tick borne diseases in South America. *Vet. Parasitol.*, v.57, p.153-165, 1995.
- NIELSEN, K.; SMITH, P.; GALL, D.; DE ECHAIDE, S.T.; WAGNER, G.; DAJER, A. Development and validation of an indirect enzyme immunoassay for detection of antibody to *Anaplasma marginale* in bovine sera. *Vet. Parasitol.*, v.67., p.133-142, 1996.

- NORTON, G.A.; SUTHERST, R.W.; MAYWALD, G.F. A framework for integrating control methods against the cattle tick, *Boophilus microplus* in Australia. *J. Appl. Ecol.*, v.20, p.489-505, 1983.
- NORVAL, R.A.I.; FIVAZ, B.H.; LAWRENCE, J.A.; DAILLECOURT, T. Epidemiology of tick-borne diseases of cattle in Zimbabwe. I. Babesiosis. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, v.15, p.87-94, 1983.
- O'DONOGHUE, P.J.; FRIEDHOFF, K.T.; VIZCAINO, O.G.; WEYRETER, H. The detection of IgM and IgG antibodies against *Babesia bigemina* in bovine sera using semi-defined antigens in enzyme immunoassays. *Vet. Parasitol.*, v.18, p.1-12, 1985.
- OPDEBEECK, J.P. Vaccines against blood sucking arthropods. *Vet. Parasitol.*, v.54 p.205-222, 1994.
- PALMER, G.H.; McELWAIN, T.F. Molecular basis for vaccine development against anaplasmosis and babesiosis. *Vet. Parasitol.*, v.57, p.233-253, 1995.
- PASSOS, L.M.F.; SCIAVICCO, C.J.S.; SAMPAIO, I.B.M.; LIMA, W.S. Estudo epidemiológico da babesiose bovina em Minas Gerais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.6, n.2, p.311, 1997. (suplemento 1).
- PATARROYO SALCEDO, J.H.; RIBEIRO, M.; SANTOS, J.L.; FARIA, J.E. Epidemiologia das Babesioses Bovinas no Estado de Minas Gerais. 1. prevalência de anticorpos fluorescentes na Zona da Mata. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.39, n.3, p.423-429, 1987.
- PAYNE, R.C.; OSORIO, O. Tick-borne diseases of cattle in Paraguay. I. Seroepidemiological studies on anaplasmosis and babesiosis. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, v.22, p.53-60, 1990.
- PEGRAM, R.G.; TATCHEL, R.J.; CASTRO, J.J.; CHIZYUKA, H.G.B.; CREEK, M.J.; McCOSKER, P.J.; MORAN, M.C.; NICARURA, G. Tick Control: new concepts. *World Anim. Rev.*, v.74/75, p.2-11, 1993.
- PETCHPOO, W.; TAN-ARIA, P.; BOONSAENG, V.; BROCKELMAN, C.R.; WILAIRAT, P.; PANYIN, S. A specific DNA probe which identifies *Babesia bovis* in whole blood. *Vet. Parasitol.*, v.42, p.189-198, 1992.
- POTGIETER, F.T. Epizootiology and control of anaplasmosis in South Africa. *J. S. Afr. Assoc.* v.50, p. 367-372, 1979.
- POTGIETER, F.T.; KOCAN, K.M.; McNEW, R.W., EWING, S.A. Demonstration of colonies of *Anaplasma marginale* in the midgut of *Rhipicephalus simus*. *Am. J. Vet. Res.*, v.44, p.2256-2261, 1983.
- RAND, K.N.; MOORE, T.; SRISKANTHA, A.; SPRING, K.; TELLAM, R.; WILLADSEN, P.; COBON, G.S. Cloning and expression of a protective antigen from the cattle tick *Boophilus microplus*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v.86, p.9657-9661, 1989.
- RIBEIRO, M.; PATARROYO SALCEDO, J.H.; SANTOS, J.L.; FARIA, J.E. Epidemiologia da Anaplasmosse Bovina no Estado de Minas Gerais. 1. Prevalência de Anticorpos Aglutinantes e Fluorescentes na Zona da Mata. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* v.36, n.4, p.425-32, 1984.
- RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D. Morphology and development of *Anaplasma marginale* in midgut of engorged female ticks of *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.*, v.61, p.31-39, 1996.
- RIECK, R.F. The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust. J. Agric. Res.*, v.15, p. 802-821, 1964.
- RIECK, R.F. The life cycle of *Babesia argentina* (Lignieres, 1903) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust. J. Agric. Res.*, v.17, p. 247-254, 1966.
- RIESGO, A. La ganaderia bovina en el tropico Americano, situación actual y perspectivas. In: S. FERNANDEZ-BACA. Avances en la producción de leche y carne en el tropico americano. Santiago de Chile: FAO, 1992, cap. 10, p. 13-46, 1992.

- RISTIC, M. Bovine anaplasmosis. In: Kreier, J.P.(ed). Parasitic Protozoa, p.235-249, Academic Press, London, 1968.
- 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.* Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996. 205p
- RODRIGUEZ, M.; RUBIERA, R.; PENICHER, M.; MONTESINOS, R.; CRAMATA, J.; FALCON, V.; SÁNCHEZ, G.; BRINGAS, R.; CORDOVÉS, C.; VALDES, M.; LLEONART, R.; HERBERA, L.; DE LA FUENTE, J. High level expression of the *Boophilus microplus* Bm86 antigen in the yeast *Pichia pastoris* forming highly immunogenic particles for cattle. *J. Biotechnology*, v.33, n2, p.135-141, 1994.
- RODRIGUEZ, M.; MASSARD, C.L.; FONSECA, A.H.; RAMOS, N.F.; MACHADO, H.; LABARTA; V., DE LA FUENTE, J. Effect of vaccination with a recombinant Bm86 antigen preparation on natural infestations of *Boophilus microplus* in grazing dairy and beef pure and cross-breed cattle in Brazil. *Vaccine*, v.13, n.18, p.1804-1808, 1995.
- ROGERS, R. J. Bovine anaplasmosis : an evaluation of the complement-fixation and capillary tube-agglutination tests and the incidence of antibodies in northern Queensland cattle herds. *Aust. Vet. J.*, v.47, p.364-369, 1971.
- ROSS, J.P.J.; LÖHR, K.F. Serological diagnosis of *Babesia bigemina* infection in cattle by the indirect fluorescent antibody test. *Res. Vet. Sci.*, v.9, p.557-562, 1968.
- SACCO, A.M. *Babesiose bovina: avaliação de diferentes imunógenos no processo de imunização de bovinos e da resposta humoral produzida através da RIFI e ELISA.* Tese (Doutorado), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996, 239p.
- SANSOUCY, R. Livestock-a driving force for food security and sustainable development. *World Anim. Rev.*, v.84/85, p.5-17, 1995.
- SMITH, R.D. *Babesia bovis*: Computer simulation of the relationship between the tick vector, parasite and bovine host. *Exp. Parasitol.*, v.56, p.27-40, 1983.
- SMITH, R.D.; EVANS, D.E.; MARTINS, J.R.; CERESER, V.H.; CORREA, B.L.; PETRACCIA, C.; CARDOZO, H.; SOLARI, M.A.; NARI, A. Babesiosis (*Babesia bovis*) Stability in Unstable Environments. *Ann. New York Acad. Sci.*, v.916, p.510-520, 2000.
- SOARES, C.O. *Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária.* . In: MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F.R.; SOARES, C.O. *Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária EMBRAPA/Gado de Corte*, 2001, p.13-16.
- SOLARI, M.A.; QUINTANA, S. *Epidemiología y prevención de los hemoparasitos (Babesiay Anaplasma) en el Uruguay.* In: NARI, A & FIEL, C. *Enfermedades parasitarias de importancia economica en bovinos. bases epidemiológicas para su prevención y control.* Montevideo: Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L., 1994. Cap. 24, p.481-507.
- SOUZA, J.C.P.; SOARES, C.O.; SCOFIELD, A.; MADRUGA, C.R.; CUNHA, N.C.; MASSARD, C.L.; FONSECA, A.H. Soroprevalência de *Babesia bigemina* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense. *Pesq. Vet. Bras.*, v.20, n.1, p.26-30, 2000.
- SOUZA, J.C.P.; SOARES, C.O.; MADRUGA, C.R.; MASSARD, C.L. Prevalência de anticorpos anti- *Anaplasma marginale* (Rickettsiales:Anaplasmataceae) em bovinos na mesorregião do médio Paraíba, RJ. *Ciênc. Rur.*, v.31, n.2., p.309-314, 2001.
- SPÄTH, E.J.A. Un estudio epidemiológico de babesiosis y anaplasmosis bovina en el Valle de Lerma, Provincia de Salta. *Rev. Med. Vet.*, v.67, n.5., p.274-276, 278-281, 1986.

STOKES, M. E.; DAVIS, C. S.; KOCH, G. G. Categorical Data Analysis Using the SAS System. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1995. 499p.

STILLER, D & COAN, M.E. Recent developments in elucidating tick vector relationship for anaplasmosis and equine piroplasmosis. *Vet. Parasitol.*, v.57, p.97-108, 1995.

SUTHERST, R.W.; KERR, J.D.; MAYWALD, G.F.; STEGEMAN, D.A. The effect of season and nutrition on the resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus*. *Aust. J. Agric. Res.*, v.34, p.329-339, 1983a.

SUTHERST, R.W.; MAYWALD, G.F.; KERR, J.D.; STEGEMAN, D.A. The effect of cattle tick (*Boophilus microplus*) on the growth of *Bos indicus* X *Bos taurus* steers. *Aust. J. Agric. Res.*, v.34, p.317-327, 1983b.

TATCHELL, R.J. Ecology in relation to integrated tick management. *Insect. Sci. Applic.*, v.13, p.551-561, 1992.

TICE, G. A.; BRYSON, N.R.; STEWART, C.G.; DU PLESSIS, B. The absence of clinical disease in cattle in communal grazing areas where farmers are changing from an intensive dipping programme to one of endemic stability to tick-borne diseases. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v.65, p.169-175, 1998.

TODOROVIC, R.A.; LONG, R.F. Comparison of indirect fluorescent antibody (IFA) with complement fixation (CF) tests for diagnosis of *Babesia* spp. infections in Colombia cattle. *Tropenmed. Parasitol.*, v.27, p.169-181, 1976.

TRUEMAN, K.F.; McLENNAN, M.W. Bovine abortion due to prenatal *Babesia bovis* infection. *Aust. Vet. J.*, v.64, p.63, 1987.

VANEGAS, L.F.; PARRA, S.A.; VANEGAS, C.G.; DE LA FUENTE, J. Commercialization of the recombinant vaccine GAVACTM against *Boophilus microplus* in Colombia. In: DE LA FUENTE, J. (Ed.) *The Recombinant Vaccines for the Control Cattle Tick*. p. 195-199, 1995. Elfos Scientiae.

VIDOTTO, O.; ANDRADE, G.M.; AMARAL, C.H.S.; BARBOSA, C.S.; FREIRE, R.L.; ROCHA, M.A.; VIDOTTO, M.C. Frequência de anticorpos contra *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale* em rebanhos leiteiros da região de Londrina, Paraná. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.49, n.5., p.655-659, 1997.

WALDRON, S.J.; JORGENSEN, W.K. Transmission of *Babesia* spp. by the cattle tick (*Boophilus microplus*) to cattle treated with injectable or pour-on formulations of ivermectin and moxidectin. *Aust. Vet. J.*, v.77, n.10, p.657-659, 1999.

WHARTON, R.H.; UTECH, K.B.W. The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. *J. Aust. Entomol. Society*, v.9, n.2, p.117-182, 1970.

WIKEL, S.K. Immunological control of haematophagous arthropod vectors: utilization of novel antigens. *Vet. Parasitol.*, v. 29, p.235-264, 1988.

WILLADSEN, P. Perspectives for subunit vaccines for the control of ticks. *Parasitologia*, v.32, p.195-200, 1990.

WILLADSEN, P. Perspectives for subunit vaccines for the control of ticks. *Parasitologia*, v.32, p.195-200, 1990.

WILLADSEN, P.; EISEMANN, C.H.; TELLAM, R.L. Concealed Antigens: Expanding the Range of Immunological Targets. *Parasitol. Today*, v.9, n.4, p. 132-135, 1993.

WILLADSEN, P.; BIRD, P.E.; COBON, G.S.; HUNGERFORD, J. Commercialization of a recombinant vaccines against *Boophilus microplus*. *Parasitology*, 110, p. 43-50, 1995. WILLADSEN, P. Novel vaccines for ectoparasites. *Vet. Parasitol.* v.71, p.209-222, 1997.

WINCLER, C.G.; BROWN, G.M.; LUTZ, H. Detection of antibodies to *Anaplasma marginale* by an improved Enzyme-linked immunosorbent assay with sodium dodecyl sulfate-disrupted antigen. *J. Clin. Microbiol.*, v.25, p.633-636, 1987.

ANEXOS

Tabela 1. Percentual de animais com anticorpos anti-*A. marginale* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de novembro de 1999, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>A. marginale</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	14/14	0/0	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Integrado		%	100	0	0	0	0	100	-
Antígeno rBm 86	P	T	13/13	0/0	0/0	0/0	0/0	13/13	-
Ivermectina 3.15%		%	100	0	0	0	0	100	-
Convencional	P	T	14/14	0/0	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Supressivo		%	14/14	0	0	0	0	100	-
	P	T	6/6	0/0	0/0	0/0	0/0	6/6	-
		%	100	0	0	0	0	100	-

P = positivos para *A. marginale*

T = Número total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 2. Percentual de animais com anticorpos anti-*A. marginale* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de janeiro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>A. marginale</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	12/12	2/2	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Integrado		%	100	100	0	0	0	100	-
Antígeno rBm 86	P	T	11/11	2/2	0/0	0/0	0/0	13/13	-
Ivermectina 3.15%		%	100	100	0	0	0	100	-
Convencional	P	T	13/13	1/1	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Supressivo		%	100	100	0	0	0	100	-
	P	T	14/14	0/0	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	0	0	0	0	100	-
	P	T	6/6	0/0	0/0	0/0	0/0	6/6	-
		%	100	0	0	0	0	100	-

P = positivos para *A. marginale*

T = N^o total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 3. Percentual de animais com anticorpos anti-*A. marginale* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de março de 2000, e resultados do teste de de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>A. marginale</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	6/6	8/8	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Integrado		%	100	100	0	0	0	100	-
Antígeno rBm 86	P	T	5/5	8/8	0/0	0/0	0/0	13/13	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Ivermectina 3.15%	P	T	12/12	2/2	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Convencional	P	T	13/13	1/1	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Supressivo	P	T	6/6	0/0	0/0	0/0	0/0	6/6	-
		%	100	0	0	0	0	100	-

P = positivos para *A. marginale*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear

Tabela 4. Percentual de animais com anticorpos anti-*A. marginale* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de maio de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>A. marginale</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	12/12	2/2	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Integrado		%	100	100	0	0	0	100	-
Antígeno rBm 86	P	T	0/0	7/7	0/0	1/1	5/5	13/13	-
		%	0	100	0	100	100	100	-
Ivermectina 3.15%	P	T	10/10	4/4	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Convencional	P	T	7/7	7/7	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Supressivo	P	T	6/7	0/0	0/0	0/0	0/0	6/7	-
		%	86	0	0	0	0	86	-

P = positivos para *A. marginale*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear

Tabela 5. Percentual de animais com anticorpos anti-*A. marginale* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de julho de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>A. marginale</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL L	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	14/14	0/0	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Integrado		%	100	0	0	0	0	100	-
Antígeno rBm 86	P	T	0/0	5/5	6/6	1/1	1/1	13/13	-
		%	0	100	100	100	100	100	-
Ivermectina 3.15%	P	T	8/8	6/6	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Convencional	P	T	1/1	13/13	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Supressivo	P	T	6/7	0/0	0/0	0/0	0/0	6/7	-
		%	86	0	0	0	0	86	-

P = positivos para *A. marginale*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 6. Percentual de animais com anticorpos anti-*A. marginale* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de setembro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>A. marginale</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	9/9	5/5	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Integrado		%	100	100	0	0	0	100	-
Antígeno rBm 86	P	T	0/0	13/13	0/0	0/0	0/0	13/13	-
		%	0	100	0	0	0	100	-
Ivermectina 3.15%	P	T	12/12	2/2	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Convencional	P	T	2/2	12/12	0/0	0/0	0/0	14/14	-
		%	100	100	0	0	0	100	-
Supressivo	P	T	6/7	0/0	0/0	0/0	0/0	6/7	-
		%	86	0	0	0	0	86	-

P = positivos para *A. marginale*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 7. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bovis* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de novembro de 1999, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bovis</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	11/14	0/0	0/0	0/0	0/0	11/14	-
Integrado		%	79	0	0	0	0	79	-
Antígeno rBm 86	P	T	10/13	0/0	0/0	0/0	0/0	10/13	-
		%	77	0	0	0	0	77	-
Ivermectina 3.15%	P	T	11/14	0/0	0/0	0/0	0/0	11/14	-
		%	79	0	0	0	0	79	-
Convencional	P	T	10/14	0/0	0/0	0/0	0/0	10/14	-
		%	71	0	0	0	0	71	-
Supressivo	P	T	1/6	0/0	0/0	0/0	0/0	1/6	-
		%	17	0	0	0	0	17	-

P = positivos para *B. bovis*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 8. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bovis* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de janeiro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bovis</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	11/12	2/2	0/0	0/0	0/0	13/14	0,683
Integrado		%	92	100	0	0	0	93	
Antígeno rBm 86	P	T	4/11	1/2	0/0	0/0	0/0	5/13	0,726
		%	36	50	0	0	0	38	
Ivermectina 3.15%	P	T	7/13	0/1	0/0	0/0	0/0	7/14	0,317
		%	54	0	0	0	0	50	
Convencional	P	T	8/14	0/0	0/0	0/0	0/0	8/14	-
		%	57	0	0	0	0	57	
Supressivo	P	T	0/6	0/0	0/0	0/0	0/0	0/6	-
		%	0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 9. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bovis* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de março de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bovis</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	6/6	8/8	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Integrado	%		100	100	0	0	0	100	-
Antígeno rBm 86	P	T	3/5	6/8	0/0	0/0	0/0	9/13	0,584
	%		60	75	0	0	0	69	
Ivermectina 3.15%	P	T	10/12	1/2	0/0	0/0	0/0	11/14	0,305
	%		83	50	0	0	0	79	
Convencional	P	T	13/13	1/1	0/0	0/0	0/0	14/14	-
	%		100	100	0	0	0	100	
Supressivo	P	T	0/6	0/0	0/0	0/0	0/0	0/6	-
	%		0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 10. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bovis* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de maio de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bovis</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	12/12	2/2	0/0	0/0	0/0	14/14	-
Integrado	%		100	100	0	0	0	100	-
Antígeno rBm 86	P	T	0/0	6/7	0/0	1/1	4/5	11/13	0,843
	%		0	86	0	100	80	85	
Ivermectina 3.15%	P	T	1/10	1/4	0/0	0/0	0/0	2/14	0,485
	%		10	25	0	0	0	14	
Convencional	P	T	7/7	7/7	0/0	0/0	0/0	14/14	-
	%		100	100	0	0	0	100	
Supressivo	P	T	0/7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/7	-
	%		0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 11. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bovis* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de julho de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bovis</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	12/14	0/0	0/0	0/0	0/0	12/14	-
Integrado	%		86	0	0	0	0	86	
Antígeno rBm 86	P	T	0/0	4/5	4/6	1/1	1/1	10/13	0,693
	%		0	80	67	100	100	77	
Ivermectina 3.15%	P	T	1/8	5/6	0/0	0/0	0/0	6/14	0,011
	%		13	83	0	0	0	43	
Convencional	P	T	1/1	13/13	0/0	0/0	0/0	14/14	-
	%		100	100	0	0	0	100	
Supressivo	P	T	0/7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/7	-
	%		0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N^o total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 12. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bovis* (IgG) em cada umas das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de setembro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bovis</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	4/9	3/5	0/0	0/0	0/0	7/14	0,591
Integrado	%		44	60	0	0	0	50	
Antígeno rBm 86	P	T	10/13	0/0	0/0	0/0	0/0	10/13	-
	%		77	0	0	0	0	77	
Ivermectina 3.15%	P	T	4/12	½	0/0	0/0	0/0	5/14	0,661
	%		33	50	0	0	0	36	
Convencional	P	T	2/2	12/12	0/0	0/0	0/0	14/14	-
	%		100	100	0	0	0	100	
Supressivo	P	T	0/7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/7	-
	%		0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N^o total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 13. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bigemina* (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de novembro de 1999, e resultados do teste de significância para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bigemina</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	9/14	0/0	0/0	0/0	0/0	9/14	-
Integrado		%	64	0	0	0	0	64	-
Antígeno rBm 86	P	T	10/13	0/0	0/0	0/0	0/0	10/13	-
		%	77	0	0	0	0	77	-
Ivermectina 3.15%	P	T	11/14	0/0	0/0	0/0	0/0	11/14	-
		%	79	0	0	0	0	79	-
Convencional	P	T	11/14	0/0	0/0	0/0	0/0	11/14	-
		%	79	0	0	0	0	79	-
Supressivo	P	T	3/6	0/0	0/0	0/0	0/0	3/6	-
		%	50	0	0	0	0	50	-

P = positivos para *B. bigemina*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 14. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bigemina* (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de janeiro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bigemina</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	7/12	½	0/0	0/0	0/0	8/14	0,832
Integrado		%	58	50	0	0	0	57	
Antígeno rBm 86	P	T	5/11	0/2	0/0	0/0	0/0	5/13	0,243
		%	45	0	0	0	0	38	
Ivermectina 3.15%	P	T	8/13	1/1	0/0	0/0	0/0	9/14	0,456
		%	62	1	0	0	0	64	
Convencional	P	T	13/14	0/0	0/0	0/0	0/0	13/14	-
		%	93	0	0	0	0	93	
Supressivo	P	T	1/6	0/0	0/0	0/0	0/0	1/6	-
		%	17	0	0	0	0	17	

P = positivos para *B. bigemina*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 15. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bigemina* (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de março de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bigemina</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	4/6	4/8	0/0	0/0	0/0	8/14	0,548
Integrado		%	67	50	0	0	0	57	
Antígeno rBm 86	P	T	3/5	7/8	0/0	0/0	0/0	10/13	0,271
Ivermectina 3.15%		%	60	88	0	0	0	77	
Convenciona l	P	T	6/12	2/2	0/0	0/0	0/0	8/14	0,202
Supressivo		%	50	100	0	0	0	57	
	P	T	12/13	1/1	0/0	0/0	0/0	13/14	-
		%	92	100	0	0	0	93	
	P	T	0/6	0/6	0/0	0/0	0/0	0/0	-
		%	0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 16. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bigemina* (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de maio de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bigemina</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	7/12	½	0/0	0/0	0/0	8/14	0,832
Integrado		%	58	50	0	0	0	57	
Antígeno rBm 86	P	T	0/0	5/7	0/0	1/1	3/5	9/13	0,757
Ivermectina 3.15%		%	0	71	0	100	60	69	
Convencional	P	T	5/10	4/4	0/0	0/0	0/0	9/14	0,089
Supressivo		%	50	100	0	0	0	64	
	P	T	5/7	4/7	0/0	0/0	0/0	9/14	0,591
		%	71	57	0	0	0	64	
	P	T	0/7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/7	-
		%	0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 17. Percentual de animais com anticorpos anti-*B. bigemina* (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de julho de 2000, e resultados do teste de significância para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bigemina</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	2/14	0/0	0/0	0/0	0/0	2/14	-
Integrado	%		14	0	0	0	0	14	-
Antígeno rBm 86	P	T	0/0	2/5	4/6	1/1	1/1	8/13	0,157
	%		0	40	67	100	100	62	
Ivermectina 3.15%	P	T	1/8	3/6	0/0	0/0	0/0	4/14	0,139
	%		13	50	0	0	0	29	
Convencional	P	T	1/1	10/13	0/0	0/0	0/0	11/14	0,602
	%		100	77	0	0	0	79	
Supressivo	P	T	0/7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/7	-
	%		0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 18. Percentual de animais com anticorpos anti - *B. bigemina* (IgG) em cada uma das classes de intensidade de infestação de carrapato *B. microplus* para o mês de setembro de 2000, e resultados do teste de significância, para cada um dos tratamentos.

Tratamento	Ac anti <i>B. bgemina</i>		CLASSE DE INFESTAÇÃO DE CARRAPATO					TOTAL	p ¹
			1 (zero)	2 (1-20)	3 (21-40)	4 (41-80)	5 (> 80)		
Controle	P	T	6/9	4/5	0/0	0/0	0/0	10/14	0,610
Integrado	%		67	80	0	0	0	71	
Antígeno rBm 86	P	T	0/0	6/13	0/0	0/0	0/0	6/13	-
	%		0	46	0	0	0	46	
Ivermectina 3.15%	P	T	7/12	2/2	0/0	0/0	0/0	9/14	0,273
	%		58	100	0	0	0	64	
Convencional	P	T	2/2	12/12	0/0	0/0	0/0	14/14	-
	%		100	100	0	0	0	100	
Supressivo	P	T	0/7	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
	%		0	0	0	0	0	0	

P = positivos para *B. bovis*

T = N° total de animais (positivos + negativos).

p¹ Probabilidade de um valor maior do que o da estatística de Mantel-Haenzsel sob a hipótese de ausência de associação linear.

Tabela 19. Resposta imune humoral (IgG) anti-*A. marginale* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento estratégico integrado para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

NºS	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
17	1:640	1:320	1:640	1:640	1:640	1:640
34	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
77	1:640	1:320	1:640	1:640	1:640	1:640
39	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
53	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
24	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
60	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
40	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
116	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
83	1:640	1:640	1:640	1:320	1:320	1:640
38	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
100	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
49	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
15	1:640	1:640	1:640	1:320	1:320	1:640

Tabela 20. Resposta imune humoral (IgG) anti-*A. marginale* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

Nºs	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	25/09/00
120	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
19	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
28	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
18	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320
27	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320
104	1:640	1:640	1:640	1:320	1:640	1:640
47	1:640	1:640	1:640	1:320	1:640	1:640
59	1:640	1:320	1:640	1:640	1:640	1:640
71	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320
61	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
22	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
91	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
88	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640

Tabela 21. Resposta imune humoral (IgG) anti-*A. marginale* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com ivermectina 3,15% para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

Animal	25/11/99	19/01/00	14/03/01	09/05/00	04/07/00	26/09/00
113	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
41	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
93	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
42	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
81	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
111	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
55	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
13	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
43	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
45	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
107	1:640	1:640	1:640	1:320	1:640	1:320
14	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320	1:640
37	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
67	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320

Tabela 22. Resposta imune humoral (IgG) anti-*A. marginale* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento convencional para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

N ^{os}	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
32	1:320	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
26	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320
44	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
36	1:320	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
108	1:640	1:320	1:640	1:640	1:640	1:640
10	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
92	1:320	1:640	1:640	1:320	1:640	1:640
94	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
96	1:320	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320
69	1:640	1:320	1:640	1:640	1:640	1:640
97	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
25	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
11	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
12	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640

Tabela 23. Resposta imune humoral (IgG) anti-*A. marginale* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento supressivo para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

NºS	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
125	S/amostra	S/amostra	S/amostra	1:640	1:640	1:640
126	1:640	1:640	1:640	1:640	1:320	1:640
23	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
136	1:640	1:640	1:320	1:640	1:640	1:640
133	1:320	1:320	1:320	1:320	1:640	1:320
128	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640	1:640
131	1:640	1:320	1:640	Negativo	Negativo	Negativo

Tabela 24. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bovis* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento estratégico integrado para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

Animal	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
17	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:160	Negativo
34	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
77	Negativo	1:320	1:160	1:320	Negativo	Negativo
39	1:160	1:320	1:320	1:320	Negativo	Negativo
53	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:160
24	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	Negativo
60	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320	Negativo
40	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
116	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	Negativo
83	1:160	Negativo	1:320	1:320	1:320	Negativo
38	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	Negativo
100	1:320	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320
49	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320	1/160
15	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320

Tabela 25. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bovis* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

Animal	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
120	1:320	1:160	Negativo	Negativo	Negativo	1:320
19	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
28	1:160	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
18	1:320	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
27	1:160	1:320	Negativo	1:320	1:320	1:320
104	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
47	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
59	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
71	Negativo	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
61	1:320	Negativo	Negativo	1:320	1:320	Negativo
22	1:160	Negativo	1:320	1:320	Negativo	Negativo
91	Negativo	Negativo	1:160	1:320	1:320	1:320
88	1:160	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320

Tabela 26. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bovis* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com ivermectina 3,15% para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

Animal	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
113	1:160	1:320	1:160	Negativo	Negativo	Negativo
41	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
93	1:320	1:160	1:320	Negativo	1:320	1:320
42	1:320	Negativo	1:160	Negativo	1:320	1:320
81	1:160	Negativo	Negativo	Negativo	1:320	Negativo
111	Negativo	1:320	1:160	Negativo	Negativo	Negativo
55	1:320	1:320	1:320	Negativo	Negativo	Negativo
13	1:160	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1:320
43	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
45	1:320	1:320	1:320	Negativo	Negativo	Negativo
107	1:160	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14	1:160	Negativo	1:160	Negativo	Negativo	Negativo
37	Negativo	Negativo	1:160	Negativo	Negativo	Negativo
67	Negativo	Negativo	1:160	Negativo	1:320	Negativo

Tabela 27. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bovis* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento convencional para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

N ^{os}	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
32	Negativo	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
26	1:160	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
44	Negativo	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
36	1:160	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
108	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
10	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
92	Negativo	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
94	1:320	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320
96	1:160	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
69	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
97	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
25	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
11	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
12	Negativo	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320

Tabela 28. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bovis* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento supressivo para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

Animal	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
125	S/amostra	S/amostra	S/amostra	Negativo	Negativo	Negativo
126	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
23	1:320	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
136	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
133	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
128	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
131	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tabela 29. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bigemina* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento estratégico integrado para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

NºS	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
17	1:160	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1:320
34	1:320	Negativo	1:320	1:320	1:320	1:320
77	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
39	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1:320
53	1:320	1:160	1:320	1:320	Negativo	1:320
24	Negativo	1:320	1:320	1:160	Negativo	1:320
60	1:160	1:320	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
40	1:160	1:160	1:320	1:320	Negativo	1:320
116	Negativo	Negativo	Negativo	1:160	Negativo	Negativo
83	1:160	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
38	1:320	1:320	1:320	1:320	Negativo	1:320
100	1:160	1:160	1:320	1:320	1:320	1:160
49	Negativo	1:320	1:160	1:160	Negativo	1:320
15	1:320	1:320	1:320	Negativo	Negativo	1:320

Tabela 30. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bigemina* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

Nºs	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	25/09/00
120	1:320	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1:160
19	1:320	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
28	1:160	1:160	1:320	1:320	1:160	1:320
18	1:320	1:160	1:320	1:320	1:160	Negativo
27	1:160	Negativo	Negativo	1:320	1:160	Negativo
104	1:320	1:160	1:320	1:320	Negativo	1:160
47	1:320	1:160	1:320	1:320	1:160	1:160
59	1:160	1:160	1:320	1:320	1:320	1:160
71	Negativo	Negativo	1:320	1:320	1:160	Negativo
61	1:160	Negativo	1:160	1:160	Negativo	1:320
22	Negativo	Negativo	1:320	Negativo	Negativo	Negativo
91	1:160	Negativo	1:320	1:320	1:320	Negativo
88	Negativo	Negativo	1:320	Negativo	1:160	Negativo

Tabela 31. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bigemina* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento com ivermectina 3,15% para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

N ^o s	25/11/99	19/01/00	14/03/01	09/05/00	04/07/00	26/09/00
113	1:320	1:320	1:320	Negativo	Negativo	Negativo
41	Negativo	1:160	1:320	1:320	1:320	Negativo
93	1:160	Negativo	Negativo	1:320	1:320	1:320
42	1:320	1:320	Negativo	Negativo	Negativo	1:320
81	Negativo	1:160	1:160	1:160	1:320	Negativo
111	1:160	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
55	1:160	1:320	1:160	Negativo	Negativo	Negativo
13	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1:320
43	1:320	1:320	1:320	1:320	Negativo	1:320
45	1:320	1:320	1:320	1:320	Negativo	1:320
107	1:160	1:160	1:320	1:320	1:160	1:320
14	1:320	Negativo	Negativo	1:160	Negativo	1:320
37	1:160	Negativo	Negativo	1:160	Negativo	1:160
67	1:320	1:160	1:160	1:160	Negativo	1:320

Tabela 32. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bigemina* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento convencional para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

N ^o s	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05/00	04/07/00	26/09/00
32	Negativo	1:320	1:320	1:160	1:320	1:320
26	1:320	1:320	1:320	1:320	1:160	1:320
44	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
36	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1:320
108	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
10	1:320	1:320	1:320	1:160	1:160	1:320
92	Negativo	1:320	1:320	Negativo	1:160	1:320
94	1:160	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320
96	1:160	1:320	1:320	1:320	1:320	1:320
69	1:320	1:160	1:160	Negativo	Negativo	1:320
97	1:320	1:320	1:320	1:320	1:160	1:320
25	1:320	1:320	1:320	1:160	1:320	1:320
11	1:320	1:320	1:160	Negativo	Negativo	1:320
12	1:320	1:160	1:320	Negativo	1:320	1:320

Tabela 33. Resposta imune humoral (IgG) anti-*B. bigemina* através do teste de RIFI em bovinos submetidos ao tratamento supressivo para o controle do carrapato *B. microplus*, no período de novembro de 99 a setembro de 2000. Bagé, RS.

NºS	25/11/99	19/01/00	14/03/00	09/05	04/07	12/09
125	S/amostra	S/amostra	S/amostra	Negativo	Negativo	Negativo
126	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
23	1:160	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
136	Negativo	Negativo	1:320	Negativo	Negativo	Negativo
133	Negativo	Negativo	1:160	Negativo	Negativo	Negativo
128	1:320	1:320	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
131	1:320	Negativo	1:320	Negativo	Negativo	Negativo

Tabela 34. Percentual de parasitemias para *B. bovis* e *B. bigemina* e presença de *A. marginale* diagnosticados no período do desafio no grupo controle estratégico integrado.

	24/11	25/11	26/11	27/11	29/11	01/12	04/12	05/12	06/12	07/12	09/12
Nº 15	Nº 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bbo= 0,01 Bbi=0,007	Bbo= 0,16 Bbi=0,04										
Nº 17	Nº 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bbo= 0,01	Bbo=0,006 Bbi=0,001										
Nº 24	Nº 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bbo=0,3 Bbi=0,1 Tº 39,7	Bbo=0,04 Bbi=0,03 Tº 40,2										
Nº 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bbo=0,006 Am											
Nº 34	Nº 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bbo=0,12 Bbi=0,02	Bbi=0,006										
Nº 77	Nº 77	Nº 77	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bbo= 0,06 Bbi=0,01	Bbo= 0,16 Bbi=0,07	Bbo= 0,08 Bbi=0,003									
-	Nº 60	Nº 60	Nº 60	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bb0=0,02 Bbi=0,01	Bb0=0,3 Bbi=0,1	Bb0=0,01 Bbi=0,00 3								
-	-	-	Nº 83	Nº 83	Nº 83	-	-	-	-	-	-
			Bb0=0,02	Bb0=0,02 Bbi=0,002	Bb0=0,03 Am						

Bbo= *B. bovis*, Bbi= *B. bigemina*, Am=*A. marginale*.

Tabela 35. Percentual de parasitemias para *B. bovis* e *B. bigemina* e presença de *A. marginale* diagnosticados no período do desafio no grupo tratado com o antígeno rBm 86 mais tratamentos táticos carrapaticidas.

	24/11	25/11	26/11	27/11	29/11	04/12	05/12	06/12	08/12	09/12
Nº 18 Bbo=0,01 Am	-	-	-	-	-	Nº 18 Bbo=0,03 Am	-	-	-	-
Nº 22 Bbo=0,002 Am	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	Nº 104 Bbo=0,04 Am	Nº 104 Bbo=0,04 Am	Nº 104 Bbo=0,06 Bbi=0,08 Am	Nº 104 Bbo=0,04 Bbi=0,04	-	-	-	-	-	-
-	-	Nº 27 Bbo= 0,004	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	Nº 59 Bbo=0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	Nº 47 Bbo=0,006 Bbi=0,006	-	-	-	-
-	-	Nº 88 Bbi=0,002	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	Nº 91 Bbo=0,02	Nº 91 Bbo=0,002 Bbi=0,005 Am	-	-	-	-	-	-

Bbo= *B. bovis*, Bbi= *B. bigemina*, Am=*A. marginale*.

Tabela 36. Percentual de parasitemias para *B. bovis* e *B. bigemina* e presença de *A. marginale* diagnosticados no período do desafio nogrupo tratado com ivermectina 3,15%.

24/11	25/11	26/11	27/11	29/11	04/12	06/12	08/12	09/12
Nº 41 Bbo=0,08 Bbi=0,004	Nº 41 Bbi e AM	-	-	-	-	-	-	-
-	Nº 14 Bbi e AM	Nº 14 Bbo=0,03 Bbi	Nº 14 Bbo=0,06 Bbi=0,03	Nº 14 Bbo=0,08 Bbi=0,01	-	-	-	-
-	Nº 37 Bbo=0,03 Bbi=0,004	Nº 37 Bbo=0,07 Bbi=0,06	-	-	-	-	-	-
-	Nº 81 Bbo= 0,01	-	-	-	-	-	-	-
-	Nº 107 Bbo=0,02 Bbi=0,07	Nº 107 Bbo= 0,02 Bbi=0,007	Nº 107 Bbo= 0,01 Bbi=0,002 Am	Nº 107 Bbo= 0,007 Bbi=0,03	-	-	-	-
Nº 67 Bbo=0,04	-	Nº 67 Bbo=0,03 Bbi=0,01	Nº 67 Bbo=0,01 Bbi=0,006	Nº 67 Bbo=0,007	-	-	-	-
Nº13 Bbo=0,03 Bbi=0,01 Am	-	Nº13 Bbo=0,015 Bbi=0,004 Am	-	-	-	-	-	-
Nº55 Bbo=0,008 Am	-	-	Nº55 Bbo=0,008 Am	-	-	-	-	-
-	-	-	Nº 42 Bbo=0,005 Bbi=0,01 Am	-	-	-	-	-
-	-	-	Nº 45 Bbi=0,03	Nº 45 Bbo=0,007	-	-	-	-
Nº 111 Bbo=0,02 Am	-	-	-	Nº 93 Bbo=0,004	-	-	-	-
-	-	Nº 113 Bbo=0,004 Tº 39,4 VG 22	-	-	-	-	-	-

Bbo= *B. bovis*, Bbi= *B. bigemina*, Am=*A. marginale*.

Tabela 37. Percentual de parasitemias para *B. bovis* e *B. bigemina* e presença de *A. marginale* diagnosticados no período do desafio no grupo submetido ao tratamento convencional.

24/11	25/11	26/11	27/11	29/11	01/12	05/12	06/12	08/12	09/12
Nº 10	-	-	Nº 10	-	Nº 10	-	-	-	-
Bbo=0,01			Bbo=0,01		Bbo=0,04				
Am									
-	-	Nº 108	-	-	-	-	-	-	-
		Bbo=0,003							
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Bbo= *B. bovis*, Bbi= *B. bigemina*, Am=*A. marginale*.

Tabela 38. Percentual de parasitemias para *B. bovis* e *B. bigemina* e presença de *A. marginale* diagnosticados no período do desafio no grupo supressivo.

	24/11	25/11	26/11	27/11	29/11	04/12	05/12	06/12	07/12	08/12	09/12
Nº 125 Bbo= 0,01 Bbi= 0,01	Nº 125 Bbo= 0,04	Nº 125 Bbo= 0,03	-	-	-	Nº 125 Bbo= 0,01 Am	-	-	-	-	-
Nº 133 Bbo= 0,2 Bbi= 0,01	Nº 133 Bbo= 0,2 Bbi= 0,006	Nº 133 Bbo= 0,8 Bbi= 0,02	Nº 133 Bbo= 0,04 Bbi= 0,005	Nº 133 Bbo= 0,013	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	Nº 131 Bbo= 0,03 Bbi= 0,002	Nº 131 Bbo= 0,2 Bbi= 0,005	Nº 131 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	Nº 131 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	Nº 131 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	Nº 131 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	Nº 136 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	-
-	-	-	-	Nº 136 Bbo= 0,02 Bbi= 0,006 Am	Nº 136 Bbo= 0,3 Bbi= 0,1 Am	Nº 136 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	Nº 136 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	Nº 136 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	Nº 136 Bbo= 0,2 Bbi= 0,04 Am	Nº 136 Bbo e Bbi	-
-	-	-	-	Nº 23 Bbo= 0,02 Bbi= 0,03	Nº 23 Bbo= 0,12 Bbi= 0,04	Nº 23 Bbo= 0,12 Bbi= 0,04 Am	Nº 23 Bbo= 0,3 Bbi= 0,03 Am	Nº 23 Bbo= 0,12 Bbi= 0,04 Am	Nº 23 Bbo= 0,3 Bbi= 0,03 Am	Nº 23 Bbi= 0,05 Am	-
-	-	Nº 128 Bbo= 0,02	Nº 128 Bbo= 0,01	-	-	-	-	Nº 128 Bbo, Bbi e Am	-	-	-
-	-	-	-	Nº 126 Bbi= 0,005	Nº 126 Bbo= 0,01 Am	Nº 126 Bbo= 0,008	Nº 126 Bbo= 0,008	-	Nº 126 Bbo= 0,03 Bbi= 0,02	-	Nº 126 Bbo= 0,25 Bbi= 0,1

Bbo= *B. bovis*, Bbi= *B. bigemina*, Am= *A. marginale*