



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DAYANA INOCÊNCIO DA COSTA

**PREVALÊNCIA DOS HEMOPARASITOS *ANAPLASMA MARGINALE*, *BABESIA*
SPP. E *TRYPANOSOMA VIVAX* EM BOVINOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO
PARAIBANO**

AREIA

2022

DAYANA INOCÊNCIO DA COSTA

**PREVALÊNCIA DOS HEMOPARASITOS *ANAPLASMA MARGINALE*, *BABESIA*
SPP. E *TRYPANOSOMA VIVAX* EM BOVINOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO
PARAIBANO**

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

Orientador: Prof. Dr. Inácio José Clementino

Coorientador 1: Prof. Dr. Alexandre José Alves

Coorientador 2: Profa. Dra. Valeska Shelda Pessoa de Melo

AREIA

2022

C838p Costa, Dayana Inocência da.

Prevalência dos hemoparasitos anaplasma marginale, babesia spp. e trypanosoma vivax em bovinos na microrregião do brejo paraibano / Dayana Inocência da Costa. - Areia:s.n, 2022.

60 f.

Orientação: Inácio José Clementino.

Coorientação: Alexandre José Alves, Valeska Shelda Pessoa de Melo.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Bovinocultura. 2. Tripanossomíase bovina. 3. Tristeza parasitária bovina. I. Clementino, Inácio José. II. Alves, Alexandre José. III. Melo, Valeska Shelda Pessoa de. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(043.3)



DAYANA INOCÊNCIO DA COSTA

**PREVALÊNCIA DOS HEMOPARASITOS *ANAPLASMA MARGINALE*,
BABESIA SPP. E *TRYPANOSOMA VIVAX* EM BOVINOS NA
MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Federal da
Paraíba, como parte das exigências
para a obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal. Área de
Concentração Saúde Animal no Brejo
Paraibano.

APROVADA EM 29/07/2022

BANCA EXAMINADORA

Dr. INÁCIO JOSÉ CLEMENTINO
UFPB
Orientador

Drª. DANILA BARREIRO CAMPOS
UFPB
Examinador

Dr. JACKSON SUELIO DE VASCONCELOS
UTAD - PORTUGAL
Examinador

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DAYANA INOCÊNCIO DA COSTA – Nascida em Areia, Paraíba, em 03 de julho de 1994. Médica Veterinária formada pela Universidade Federal da Paraíba, Campus II.

Ao Senhor Jesus autor e consumidor da minha
fé DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus Criador de todas as coisas, por ser a minha força e esperança todos os dias. És de fato o dono de toda a ciência, pois em tudo pude enxergar a tua mão.

Aos meus pais Antônio Soares da Costa e Maria José Inocêncio da Costa, por serem os melhores pais que alguém poderia ter. Obrigada por todo o cuidado, proteção e carinho desde o dia em que nasci até hoje. Obrigada em especial por me ajudarem no desenvolvimento desde trabalho, inclusive participando em algumas coletas e marcando visitas para mim. Amo vocês com todas as minhas forças.

Ao meu esposo Ramon Sales, por todo cuidado e amor todos os dias. E por estar comigo nos momentos onde não havia ninguém para me ajudar, por ser meu ajudante nas coletas, por fazer a análise estatística do trabalho e por ser meu apoio e sempre me passar confiança me lembrando a cada dia que é Deus quem nos sustenta e que nada foge do seu controle. Sempre digo que você é o Engenheiro mais Veterinário que existe. Te amo, pra sempre.

A minha irmã Taynah pela ajuda com o inglês me auxiliando na tradução de vários artigos que utilizei como referência para este trabalho. A minha irmã Jessyca, por auxiliar na busca por propriedades. A minha avó Darcília por todo o carinho de sempre.

Aos meus sogros, Rui e Mônica por toda a ajuda durante todo o decorrer deste trabalho desde falar com conhecidos para conseguir propriedades para as minhas coletas até a emprestar seu carro para que eu pudesse me deslocar até as propriedades. Minha eterna gratidão.

As minhas cunhadas Rayanne pelos conselhos na área acadêmica e Tatyanne por também me ajudar na difícil tarefa de conseguir propriedades para coleta. Muito obrigada.

Ao meu orientador, professor Dr. Inácio José Clementino, por toda ajuda e durante os dois anos e meio de desenvolvimento desde trabalho e também por ser o meu orientador e professor desde a graduação. Obrigada pelo incentivo a pesquisa sempre com ideias tão inovadoras e pela compreensão de sempre. O senhor é um exemplo de profissionalismo e dedicação.

À Professora Dra. Danila Barreiro Campos, por me apresentar à biologia molecular e por toda a ajuda, disponibilidade e incentivo durante o desenvolvimento

deste trabalho. Não tenho palavras para agradecer por tudo que a senhora fez por mim. Serei eternamente grata. Que Deus a abençoe ricamente!

Aos meus co-orientadores Profa. Dra. Valeska e Prof. Dr. Alexandre pelos conselhos e apoio.

Ao meu colega de pesquisa Alberto Andrade Júnior, pela ajuda desde o início da pesquisa, durante as coletas e no processamento das amostras, com certeza foi parte muito importante no desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas residentes, em especial Taiane (por ser minha amiga desde a graduação e se preocupar comigo, sempre me presenteava com um chocolate quando me via pelos corredores do HUV, como ela mesma dizia era pra “adoçar o meu dia”), Edvaldo, (pelas conversas no laboratório sobre os desafios da pós graduação), Anderson e Lívia pelas dicas com a pesquisa e pelo bom humor. Muito obrigada a todos.

Aos meus colegas de mestrado em especial a Cristiane (sempre comigo desde a graduação até o final da prorrogação do mestrado, obrigada por fazer com que eu não me sentisse só nos perrengues do mestrado), a Bianca (pelas conversas nos longos dias no laboratório de biologia molecular e por compartilhar experiências) a Carol (pela ajuda nas coletas e por me premiar com o primeiro caso positivo para o meu trabalho, nosso artigo ainda sai, prometo).

Aos funcionários do HUV-UEPB, em especial a Dona Gilma, que sempre me fazia sorrir com seu bom humor e alegria.

À Clara Vasconcelos, técnica do laboratório de Biologia Molecular, por toda ajuda e disponibilidade ao longo do desenvolvimento deste trabalho, sem dúvidas alegrou os meus dias e os tornou menos difíceis, que coração incrível você tem! Que Jesus te abençoe muito!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCAN), ao coordenadores: Prof. Dr. Artur Cezar De Carvalho Fernandes e Prof. Dr. Jeann Leal de Araújo, pelo empenho e ao secretário Jozênio, pela disponibilidade profissionalismo.

Toda glória a Deus!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Esta dissertação é formada por dois trabalhos, todos relacionados à epidemiologia das hemoparasitoses causadas por *Anaplasma marginale*, *Babesia* spp. e *Trypanosoma vivax* em bovinos na microrregião do Brejo Paraibano. O primeiro artigo descreve a ocorrência de *T. vivax* e o segundo a prevalência de *A. marginale* e *Babesia* spp. Durante as últimas décadas, o Brasil firmou-se como um grande produtor e exportador de carne bovina e produtor de leite bovino. Algumas enfermidades parasitárias constituem-se em fatores limitantes ao desenvolvimento da atividade pecuária bovina em áreas tropicais e subtropicais, entre as quais se destacam as hemoparasitoses; dentre essas enfermidades, a tripanossomíase e a tristeza parasitária bovina (TPB) se encontram na lista das mais importantes. Levando em consideração os impactos na economia causados pelos hemoparasitas na produção animal e a escassez de estudos sobre estas enfermidades no estado da Paraíba, objetivou-se realizar um levantamento epidemiológico da tripanossomíase bovina e da tristeza parasitária bovina (TPB) na microrregião do Brejo Paraibano. Diante do estudado pode-se concluir que existe a presença de *Trypanosoma vivax* na microrregião do brejo paraibano e que há uma alta prevalência de *Babesia* spp. e *Anaplasma marginale* nesta mesma região, o que pode representar riscos relacionados a sanidade do rebanho e conseqüentemente perdas econômicas de grandes impactos para os produtores, visto que estas enfermidades afetam diretamente atividade pecuária.

Palavras-Chave: bovinocultura; tripanossomíase bovina; tristeza parasitária bovina.

ABSTRACT

This dissertation consists of two works, all related to the epidemiology of hemoparasites *Anaplasma marginale*, *Babesia* spp. and *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brejo Paraibano microregion. The first article describes the occurrence of *T. vivax* and the second the prevalence of *A. Marginale* and *Babesia* spp. During the last decades, Brazil has established itself as a major producer and exporter of beef and beef milk producer. Some parasitic diseases constitute limiting factors to the development of cattle ranching in tropical and subtropical areas, among which hemoparasitoses stand out; among these diseases, trypanosomiasis and bovine parasitic sadness (BPD) are on the list of the most important. Taking into account the impacts on the economy caused by hemoparasites in animal production and the scarcity of studies on these diseases in the state of Paraíba, the objective was to carry out an epidemiological survey of bovine trypanosomiasis and bovine parasitic sadness (TPB) in the microregion of Brejo Paraibano. In view of the study, it can be concluded that there is the presence of *Trypanosoma vivax* in the microregion of the Paraíba swamp and that there is a high prevalence of *Babesia* spp. and *Anaplasma Marginale* in this same region, which can represent risks related to the health of the herd and consequently economic losses of great impact for the producers, since these diseases directly affect livestock activity.

Key words: cattle farming; bovine trypanosomiasis; bovine parasitic sadness.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Amostra Positiva Na Leitura Direta Da Lâmina Para <i>Trypanossoma Vivax</i> , Venopunção Da Jugular, Foi Visualizada A Forma Tripomastigota Do Parasita (Seta).	24
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sequências dos <i>primers</i> utilizados nas reações em cadeia de polimerase (PCR) e número de pares de base (pb).	21
Tabela 2 - Frequência de rebanhos e de bovinos examinados e positivos para <i>T. vivax</i> na microrregião do brejo paraibano de acordo com o tipo de teste realizado, pesquisa direta e PCR.	24
Tabela 3 - Distribuição dos resultados dos exames de PCR para <i>T. vivax</i> em bovinos da microrregião do brejo paraibano de acordo com o sexo, raça e município.	26

SUMÁRIO

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	12
2 CAPÍTULO I –TRIPANOSSOMIASE BOVINA NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO.....	14
2.1 RESUMO.....	15
2.2 ABSTRACT	16
2.3 INTRODUÇÃO	17
2.4 MATERIAIS E MÉTODOS	18
2.4.1 <i>Local do estudo</i>	18
2.4.2 <i>Comissão de ética no uso de animais</i>	19
2.4.3 <i>Animais e delineamento experimental</i>	19
2.4.4 <i>Atividades de campo e coleta de dados epidemiológicos</i>	19
2.4.5 <i>Testes parasitológicos (Pesquisa direta)</i>	20
2.4.6 <i>Testes Moleculares</i>	20
2.4.6.1 <i>Extração de DNA</i>	20
2.4.6.2 <i>Reação em Cadeira de Polimerase (PCR)</i>	21
2.4.7 <i>Análise Estatística</i>	22
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
2.6 CONCLUSÃO	26
2.7 REFERÊNCIAS	27
3 CAPÍTULO II – PREVALÊNCIA DE HEMOPARASITOS EM BOVINOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO.	31
3.1 RESUMO.....	33
3.2 ABSTRACT	34
3.3 INTRODUÇÃO	35
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.6 CONCLUSÃO.....	47
3.7 REFERÊNCIAS	49
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	58
APÊNDICE B – CHECK LIST	59
ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO CEUA/UFPB.....	60

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Esta dissertação é formada por dois trabalhos, todos relacionados à epidemiologia dos hemoparasitos *Anaplasma marginale*, *Babesia* spp. e *Trypanosoma vivax* em bovinos na microrregião do Brejo Paraibano. O primeiro artigo descreve a prevalência de *T. vivax* e o segundo a prevalência de *A. marginale* e *Babesia* spp.

A bovinocultura possui grande importância na economia brasileira e começou a ser desenvolvida no século XVI, exercendo forte influência na expansão econômica, sendo também importante no abastecimento do mercado interno (TEIXEIRA; HESPANHOL, 2014). Durante as últimas décadas, o Brasil firmou-se como um grande produtor e exportador de carne bovina e produtor de leite bovino (LUCENA, 2010).

Diversas doenças dos bovinos afetam a produção, o rendimento e a lucratividade dos produtores, dentre elas estão as parasitoses que são consideradas o problema sanitário de maior importância para a produção de gado de corte em todo o mundo (BUNGENSTAB, 2012). Algumas enfermidades parasitárias constituem-se em fatores limitantes ao desenvolvimento da atividade pecuária bovina em áreas tropicais e subtropicais, destacando-se as hemoparasitoses; sendo a tripanossomíase e a tristeza parasitária bovina (TPB) contidas na lista das mais importantes (SANTOS, 2013).

As tripanossomíases são doenças provocadas por protozoários do gênero *Trypanosoma*, que têm distribuição cosmopolita e importância econômica na África em áreas ocupadas pelo seu vetor biológico, a mosca tsé-tsé (BATISTA *et al.*, 2008).

Os principais sinais clínicos incluem diminuição da produção de leite, apatia, anorexia, perda progressiva de peso, linfadenopatia, palidez da mucosa, diarreia, fraqueza e febre, bem como graves danos reprodutivos, como aborto, distorcia e infertilidade (ANDRADE *et al.*, 2019; CASTELLI *et al.*, 2021).

O diagnóstico da tripanossomíase pode ser realizado com base nos sinais clínicos associados a métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares (CASTELLI *et al.*, 2021). A Quimioterapia e quimioprofilaxia atualmente representam

o pilar para o controle da tripanossomíase bovina causada pelo *T. vivax* (GIORDANI *et al.*, 2016). As drogas consideradas efetivas no tratamento de infecção por *T. vivax* incluem aceturato de diminazeno e cloreto de isometamídio (GERMANO *et al.*, 2018).

A tristeza parasitária bovina é um complexo de enfermidades que compreende duas patogenias, a babesiose, cuja causa está relacionada à *Babesia bigemina* e a *B. bovis*, em associação com a anaplasmosse, causada pelas bactérias riquetsias *Anaplasma marginale*. Os três agentes são transmitidos através do carrapato *Rhipicephalus microplus*. A anaplasmosse pode ainda ser transmitida através das vias iatrogênica, transplacentária e por vetores mecânicos como moscas hematófagas, mutucas e culicídeos (KESSLER 2001; SILVA *et al.*, 2021).

Os primeiros sinais clínicos se iniciam de duas a três semanas após a infecção. Surtos da doença costumam aparecer em animais a partir de um ano de idade. Os principais sinais clínicos costuma ser: febre, anemia com diminuição do hematócrito, apatia, ataxia, palidez de mucosas, icterícia, taquipneia, prostração e inapetência, desidratação, ranger de dentes, hemoglobinemia, hemoglobinúria, podendo levar o animal a óbito (KIKUGAWA, 2009; PIAU JUNIOR *et al.*, 2013; SANTOS, 2013; CUNHA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2021).

A TPB pode ser diagnosticada através dos sinais clínicos, contudo os exames laboratoriais são de fundamental importância para a confirmação do agente etiológico envolvido na enfermidade. Exames laboratoriais, realizados através de pesquisa direta através da leitura de esfregaço de sangue periférico ao microscópio e análise do hematócrito são uma ferramenta de suma importância para a confirmação do diagnóstico clínico e consequentemente para o estabelecimento de um tratamento específico, diminuindo os custos com medicações (PEREIRA, 2006; RIET-CORREA *et al.*, 2007).

Levando em consideração os impactos na economia causados pelos hemoparasitas na produção animal e a escassez de estudos sobre estas enfermidades no estado da Paraíba, objetivou-se realizar um levantamento epidemiológico da tripanossomíase bovina e da tristeza parasitária bovina (TPB) na microrregião do Brejo Paraibano.

2 CAPÍTULO I –TRIPANOSSOMIASE BOVINA NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO

(Artigo submetido – Revista Submissão ISSN: 0000-0000)

2.1 RESUMO

A tripanossomíase bovina, causada pelo *Trypanossoma vivax*, pode causar impacto negativo no âmbito sanitário e econômico para a bovinocultura, entretanto, existem poucos estudos sobre esta infecção no nordeste brasileiro. Considerando-se a importância da doença para a bovinocultura e o pouco conhecimento sobre a mesma na região, este estudo objetivou determinar a prevalência da tripanossomíase bovina na microrregião do Brejo Paraibano. A pesquisa foi realizada em propriedades rurais criadoras de bovinos situadas na microrregião do Brejo Paraibano. As coletas foram realizadas entre os meses de abril e novembro de 2021, sendo colhidas 183 amostras de sangue de bovinos a partir de seis meses de idade e de ambos os sexos, provenientes de 23 rebanhos. As amostras foram processadas no laboratório de medicina preventiva do CCA/UFPB. A pesquisa direta do *T. vivax* foi feita pela técnica de Woo e, 97 amostras foram submetidas ao teste de PCR. Pelo esfregaço sanguíneo detectou-se *T. vivax* em 0,55% (1/183) bovino oriundo de 4,35% (1/23) rebanho. Na PCR 12,37% (12/97) amostras oriundas de 30,43% (7/23) dos rebanhos foram positivas para *T. vivax*. Não houve associação estatística entre sexo, raça e município de origem dos animais. A infecção por *T. vivax* está presente na microrregião do brejo paraibano, o que pode se tornar um problema sanitário para os rebanhos, pois sua evolução clínica é semelhante a outras hemoparasitoses presentes na região.

Palavras-chave: epidemiologia; *Trypanossoma vivax*; hemoparasitos

2.2 ABSTRACT

Bovine trypanosomiasis, caused by *Trypanosoma vivax*, can have a negative impact on health and economics for cattle, however, there are few studies on this infection in northeastern Brazil. Considering the importance of the disease for cattle and the little knowledge about it in the region, this study aimed to determine the prevalence of bovine trypanosomiasis in the microregion of Brejo Paraibano. The research was carried out in rural properties that raise cattle located in the micro-region of Brejo Paraibano. The collections were carried out between April and November 2021, with 183 blood samples from cattle from six months of age and of both sexes, from 23 herds. The samples were processed in the preventive medicine laboratory of the CCA/UFPB. The direct search for *T. vivax* was performed using the Woo technique and 97 samples were submitted to the PCR test. *T. vivax* was detected by blood smear in 0.55%1 bovine (1/183, 0.55%) bovine from 14.35% herd (1/23, 4.35%) herd. In PCR 12.37% (12/97) samples from 30.43% (7/23) of the herds were positive for *T. vivax*. There was no statistical association between sex, race and city of origin of the animals. Infection by *T. vivax* is present in the microregion of the Paraíba swamp, which can become a health problem for the herds, as its clinical evolution is similar to other hemoparasitosis present in the region.

Keywords: epidemiology; *Trypanosome vivax*; hemoparasites

2.3 INTRODUÇÃO

As tripanossomíases são enfermidades causadas por protozoários patogênicos do gênero *Trypanosoma*, que têm ampla distribuição e importância na economia africana, principalmente em regiões habitadas pelo seu vetor biológico, a mosca tsé-tsé (GARDINER *et al.*, 1989).

No Brasil, a tripanossomíase bovina foi diagnosticada pela primeira vez em búfalos no Estado do Pará nos anos 1970. Inicialmente o parasita restringiu-se a Região Norte, e posteriormente se propagou para diversas regiões do Brasil (FRANGE, 2013).

A transmissão do *T. vivax* pode ocorrer basicamente três maneiras: a forma cíclica através do vetor mosca tsé-tsé, de maneira mecânica ou não cíclica através de insetos tabanídeos ou hematófagos ou ainda de forma iatrogênica pelo uso de uma agulha por vários animais durante a aplicação de medicamentos ou vacinas (VARGAS, ARELLANO, 1997; JONES, DÁVILA, 2001).

Nos estágios iniciais da infecção observa-se anemia hemolítica, a qual é atribuída a mecanismos imunomediados. Os principais sinais clínicos da enfermidade são: febre, emaciação, fraqueza que tende a ser progressiva, síndromes hemorrágicas e aborto, podendo levar o animal a morte (GAUNT, 2000).

Usualmente o diagnóstico de *T. vivax* é feito por meio da combinação entre os sinais clínicos, técnicas parasitológicas, sorológicas e moleculares. Geralmente o diagnóstico parasitológico é o método mais utilizado para identificar *T. vivax* a campo (MADRUGA, 2004; MENESES, 2016; GONZATTI *et al.*, 2014). Métodos sorológicos devem ser utilizados de forma a complementar ao diagnóstico parasitológico, pois através destes pode-se comprovar se os animais diagnosticados como negativos nos exames parasitológicos eram de fato negativos, já que em fases crônicas da enfermidade as técnicas parasitológicas apresentam baixa sensibilidade, devido à baixa parasitemia, e flutuante, o que torna importante a associação de ambas as técnicas (FRANGE, 2013).

Por ser uma doença enzoótica em algumas regiões, a tripanossomíase tem causado impactos de grande extensão, principalmente no que diz respeito a queda na produção e perda de animais (PAIVA *et al.*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2008). O *T.*

vivax representa grande interesse na pecuária, podendo causar impacto negativo no âmbito sanitário e econômico para a bovinocultura local (SILVA *et al.*, 2004; LOPES *et al.*, 2018).

No Brasil, os estudos sobre a patogenicidade da tripanossomose bovina são escassos (SCHENK *et al.*, 2001). A situação epidemiológica, com exceção das regiões Norte e do Pantanal, onde a doença é endêmica, é dada, em sua maioria, pelo relato de surtos ou de trabalhos bastante pontuais, revelando a necessidade de estudos epidemiológicos mais consistentes que possam auxiliar no conhecimento da doença (MENESES, 2016). Segundo Batista *et al.* (2007), ainda existem poucos relatos de tripanossomíase bovina na região Nordeste do Brasil, o primeiro registro de um surto ocorreu apenas no ano de 2002 no município de Catolé do Rocha, estado da Paraíba, onde quase metade do rebanho presente em uma propriedade apresentou a doença.

De acordo com Lima *et al.* (2010), estudos epidemiológicos locais, são a base para a aplicação de ações profiláticas. Portanto, o diagnóstico da situação epidemiológica é fundamental para identificar a importância da doença dentro do contexto produtivo, auxiliando a tomada de decisões para o seu controle e analisando se as medidas adotadas são eficientes (MENESES, 2016). Sendo assim, este trabalho teve por objetivo determinar a prevalência da infecção por *Trypanosoma vivax* em bovinos na microrregião do brejo paraibano.

2.4 MATERIAIS E MÉTODOS

2.4.1 Local do estudo

A pesquisa foi realizada em propriedades rurais criadoras de bovinos situadas na microrregião do Brejo Paraibano, composta pelos municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria; que tem precipitação média mensal de 95,9 mm, variando de 18,2 mm (mês mais seco em outubro) a 184,9 mm (mês mais chuvoso em junho) (CHAGAS NETO; ARAÚJO, 2017).

As coletas foram realizadas entre os meses de abril e novembro de 2021. As amostras colhidas foram processadas e analisadas nos Laboratórios de Medicina

Veterinária Preventiva e Patologia Clínica do Hospital Universitário Veterinário (HUV) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), localizada no município de Areia – PB.

2.4.2 Comissão de ética no uso de animais

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA–UFPB) sob o protocolo CEUA nº 2113050520.

2.4.3 Animais e delineamento experimental

Foram incluídos na pesquisa bovinos de ambos os sexos e acima de seis meses de idade. O tamanho amostral foi calculado considerando-se os seguintes parâmetros: prevalência esperada de 9% (BATISTA *et al.*, 2018), nível de confiança de 95% e um erro estatístico de 5%, utilizando-se a fórmula para cálculo de amostras aleatórias (THRUSFIELD, 2004). O número calculado foi de 126 animais. Foi amostrado um total de 183 animais provenientes de 23 propriedades sorteadas, de forma aleatória, dentre uma listagem de propriedades criadoras de bovinos, fornecida pela Defesa Agropecuária do Estado da Paraíba. A escolha dos animais nas propriedades foi feita através de amostragem aleatória simples (THRUSFIELD, 2004).

2.4.4 Atividades de campo e coleta de dados epidemiológicos

Para a coleta de sangue os animais foram previamente contidos. Foram colhidas amostras de sangue por punção da veia jugular externa, utilizando-se sistema de coleta a vácuo com o anticoagulante ácido etilendiaminotetracético (EDTA) 2 mL. Após a coleta foi preenchido um *check list* para obtenção de informações sobre o manejo e a criação dos animais, com a finalidade de avaliar o perfil epidemiológico do rebanho.

As amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Hospital Veterinário do CCA – UFPB, onde foram processadas.

2.4.5 Testes parasitológicos (Pesquisa direta)

Foram confeccionados esfregaços sanguíneos (THRALL *et al.*, 2015), onde uma gota de sangue foi colocada próxima à extremidade de uma lâmina de microscopia e uma segunda lâmina foi posicionada sobre a primeira, à frente da gota de sangue, num ângulo de 30 a 45°, e num movimento único e rápido, deslizada até o final da primeira lâmina. Após secagem dos esfregaços, os mesmos foram fixados e corados por meio do Kit Panótico Rápido (Coloração de Romanowsky) e deixados secar ao ar livre. A leitura das lâminas foi feita em zigue-zague através de microscópio óptico com objetiva de imersão de 100x.

Também a partir das amostras de sangue com EDTA foram preenchidos e selados capilares de microhematócrito que em seguida foram centrifugados a 13.000 rpm durante 10 minutos. Após a centrifugação, foi realizada a leitura com o auxílio do cartão de leitura para microhematócrito (JAIN, 1993), para obtenção do Volume Globular (VG) e realização estudos parasitológicos por meio da Técnica de Woo através da qual foi feita a visualização microscópica da região da capa leucocitária.

2.4.6 Testes Moleculares

2.4.6.1 Extração de DNA

A extração do DNA foi realizada em amostras de sangue (200µl) colhidas com EDTA, utilizando o kit comercial BRASÍLICA (Nova Biotecnologia®, Brasil, São Paulo, Cotia), segundo o protocolo do fabricante.

A concentração e a pureza do DNA (ng/µl) foram determinadas pela leitura da absorbância a 260nm e 280nm utilizando aparelho de espectrofotometria (Colibri®). Após as leituras, as amostras foram diluídas para concentração de 10ng/µl com água ultrapura (Milli-Q®) e armazenadas a -20°C até o momento do uso.

2.4.6.2 Reação em Cadeira de Polimerase (PCR)

Os testes de PCR foram realizados em 97 amostras seguindo o protocolo adaptado de (GEYSEN *et al.*, 2003), que se baseia em uma PCR semi-nested utilizando sequência do gene da subunidade ribossomal 18S do *Tripanossoma vivax* (acesso GenBank U22316) para o desenho dos primers. Como controle endógeno fez-se uso de Tubulina Beta (acesso Gen Bank BT030522.1) em todas as amostras testadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Sequências dos primers utilizados nas reações em cadeia de polimerase (PCR) e número de pares de base (pb).

PCR	Primer	Sequencias de Oligonucleotídeos	pb
Standard	18STnF2	5' CAACGATGACACCCATGAATTGGGGA 3'	710
	18STnR3	5'TGCGCGACCAATAATTGCAATAC 3'	
Semi-nested	18STnF2	5' CAACGATGACACCCATGAATTGGGGA 3'	616
	18STnR2	5' GTGTCTTGTCTCACTGACATTGTAGTG 3'	
Tubulina Beta	TUBB	5' –CAGCAAGATCCGTGAAGAGT -3'	123
		5' –ACCAGCTGATGGACAGAGAG- 3'	

Fonte: Autoria Própria.

Amostras de DNA do sangue de uma vaca naturalmente infectada (Amostras gentilmente cedidas pelo colega Médico Veterinário Josemar Marinho, onde as mesmas foram coletadas de uma propriedade onde ocorreu um surto da doença na cidade de Patos-PB) e água ultrapura (Milli-Q®) foram utilizadas como controles positivos e negativos, respectivamente.

A primeira reação de PCRs (Standard) foi realizada com um volume total de 25µl contendo: 1X do Tampão de reação 10X, 200 µM de dNTP, 0,2µM de cada primer, 1,5mM de MgCL, 0,625U de Taq DNA polimerase e 50 ng de amostra. A segunda reação de PCR (semi-nested) foi realizada nas mesmas condições utilizando como amostra 1µl do produto de amplificação da reação standard. A PCR foi realizada termociclador (Biometra®), e as condições de amplificação foram: desnaturação inicial a 94°C por 4 minutos, 40 (Standart) ou 25 (Semi-nested) ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 60°C por 45 segundos e

extensão a 72°C por 1 minuto, seguidos por uma extensão final a 72°C durante 5 minutos .

Uma alíquota de 8µL da amostra amplificada na reação PCR com 2µL de corante Gel Loading Blue (Bio Labs®) foi examinada em gel de agarose a 1%, corado com SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen®). Foi empregado como marcador do peso molecular 1kb DNA Ladder RTU (KASVI®). A corrida do Gel foi realizada por meio de eletroforese, onde foram adotados os seguintes parâmetros: 80 de voltagem, 400 de miliamperagem e duração de 80 minutos. Ao final da corrida o gel foi fotografado utilizando um fotodocumentador para gel de eletroforese L-PIX (Loccus®).

2.4.7 Análise Estatística

As frequências de animais positivos na PCR para *T. vivax* entre os grupos (sexo, raça, município, estação do ano) foram submetidas à análise de variância (ANOVA) com nível de confiança de 95% e/ou comparadas pelo teste Tukey ou Qui-quadrado, com nível de confiança de 95%. A avaliação da positividade para *T. vivax* e o VG% foi realizada pelo teste de correlação de Spearman. As operações estatísticas foram realizadas com o auxílio do software estatístico BioEstat 5.3 (AYRES *et al.*, 2007).

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de tripomastigotas de *T. vivax* pela pesquisa direta em esfregaço sanguíneo (Figura 1) foi evidenciada em 0,55% (1/183; [IC95% = 0,01% - 3,02%]) bovino, proveniente de 4,35%(1/23; [0,77% - 20,99%]) dos rebanhos avaliados. Das amostras submetidas à técnica de PCR, 12,37% (12/97; [7,22% - 20,39%]) foram positivas, as quais eram provenientes de 30,43% (7/23; [15.6% - 50.86%]) dos rebanhos examinados (Tabela 2).

Esta baixa frequência de positivos no exame do esfregaço sanguíneo pode dever-se ao fato de que, em fases crônicas da enfermidade, as técnicas parasitológicas apresentam baixa sensibilidade, devido a parasitemia baixa e flutuante, o que torna importante a associação de técnicas parasitológicas com

outros meios de diagnóstico como a sorologia e testes moleculares (FRANGE, 2013). Outro fator que pode ter contribuído para este resultado é o fato de o sangue coletado ter sido sistêmico e não periférico, pois esfregaços obtidos através de sangue periférico tem uma maior carga parasitária, a probabilidade de se achar parasitas circulantes é 20 vezes maior que na circulação sistêmica (SANTOS, 2013; RISTOW; JÁCOME, 2016).

Prevalências semelhantes, 0,3% no esfregaço sanguíneo e 18,9% na PCR foram relatados no estado da Bahia (GOMES *et al.*, 2021) e inferiores aos achados de Reis *et al.* (2019) em Minas Gerais que relataram infecção em 36,7% (11/30) rebanhos suspeitos investigados com diagnóstico por pesquisa em esfregaço sanguíneo e confirmação por PCR. Relatos de surtos de infecção por *T. vivax* foram relatados nos estados de Pernambuco e Alagoas com três surtos afetando 9% das amostras confirmadas na PCR, com presença do *T. vivax* no esfregaço sanguíneo (ANDRADE NETO *et al.*, 2019). Estes autores relatam que a PCR foi mais eficiente no diagnóstico e que, embora com baixa sensibilidade, a técnica do esfregaço sanguíneo mostrou-se uma importante ferramenta quando realizada na fase de parasitemia para monitorar o rebanho. Entretanto, no estado do Paraná, todas as amostras foram negativas no esfregaço sanguíneo e sorologia por imunofluorescência (SNAK *et al.*, 2018).

Semelhante aos achados de Andrade Neto *et al.* (2019), a técnica de PCR usada neste trabalho mostrou-se mais sensível que a pesquisa direta por meio de esfregaço sanguíneo na detecção da infecção por *T. vivax* em sua fase crônica.

Os dados deste trabalho reiteram a presença da infecção por *T. vivax* no estado da Paraíba, uma vez que surtos de tripanossomíase bovina diagnosticados por pesquisa direta no esfregaço sanguíneo e confirmado por PCR já haviam sido relatados no sertão paraibano em 2002 (primeiro surto, afetando 28,5% dos animais de um rebanho (BATISTA *et al.*, 2007), e em 2005/2006 afetando 24,4% dos animais (BATISTA *et al.*, 2008). Em 2009 houve recorrência nas mesmas propriedades dos surtos anteriores, afetando 33,8% dos animais (BATISTA *et al.*, 2012).

Devido a períodos prologados de secas e altas temperaturas na região semiárida do nordeste, Batista *et al.* (2008) sugeriram que a região apresenta instabilidade enzoótica para a tripanossomíase, provavelmente devido ao ambiente desfavorável para o desenvolvimento dos vetores durante a maior parte do ano. Vale ressaltar que este trabalho refere a presença de infecção por *T. vivax* na

microrregião do brejo paraibano, local este onde ainda não haviam relatos de focos ou surtos da doença, o que ressalta a importância de estudos como este em outras áreas ainda não estudadas, pois através do conhecimento da situação epidemiológica da doença em uma localidade é possível estabelecer medidas profiláticas e de controle eficazes.

Figura 1 - Amostra positiva na leitura direta da lâmina para *Trypanossoma vivax*, venopunção da jugular, foi visualizada a forma tripomastigota do parasita (seta).



Fonte: Arquivo Pessoal.

Tabela 2 - Frequência de rebanhos e de bovinos examinados e positivos para *T. vivax* na microrregião do brejo paraibano de acordo com o tipo de teste realizado, pesquisa direta e PCR.

Teste realizado	Rebanhos				Bovinos			
	Examinados		Positivos		Examinados		Positivos	
	nº	nº	%	IC 95%	nº	nº	%	IC 95%
Pesquisa direta	23	1	4.35	[0.77 - 20.99]	183	1	0.55	[0.01 - 3.03]
PCR	23	7	30.43	[15.6 - 50.86]	97	12	12.37	[7.22 - 20.39]

IC = intervalo de confiança

Fonte: Autoria Própria.

Durante as visitas foi observada uma intensa presença de moscas-do-chifre (*Haematobia irritans*) no dorso dos animais, além disso, os produtores ou tratadores relataram a presença de mutucas (tabanídeos) e de moscas-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans*), insetos dípteros hematófagos que poderiam transmitir o *T. vivax*, como exposto no estudo de Zapata Salas *et al.* (2017) que evidenciaram a presença de *T. vivax* em *H. irritans* e *S. calcitrans*, concluindo que a *H. irritans* era o principal transmissor na região investigada da Colômbia. Outros autores reforçam o

fato da *H. irritans* e *S. calcitrans* poderem ter papel importante na transmissão de *T. vivax* (CADIOLI *et al.*, 2012) e, na Paraíba, Batista *et al.* (2008), atribuíram a presença de vetores mecânicos, como tabanídeos e *S. calcitrans*, como sendo um dos principais fatores responsáveis pela ocorrência da tripanossomíase bovina.

A prevalência de amostras positivas nos testes moleculares foi superior nas estações do outono 10% (6/60; [IC 95% = 4,66% – 20,15%]) e inverno 9,8% (5/51; [IC 95% = 4,26% – 20,98%]) e a menor na primavera, 1,39% (1/72; [IC 95% = 0,25% – 7,46%]), sem coleta de material no verão. Houve diferença estatística significativa nos positivos em relação a estação do ano ($p < 0,05$). Dados semelhantes foram observados nos estudos de Silva (2018) e Dávila *et al.* (2003) que observaram uma maior prevalência de casos agudos da doença no período chuvoso. A espoliação dos animais por moscas dos estábulos e mutucas é mais intensa em épocas chuvosas, quando há um aumento considerável na quantidade de insetos (PEREIRA *et al.*, 2018).

A distribuição dos resultados dos exames de PCR em bovinos provenientes da microrregião do brejo paraibano de acordo com o sexo, raça e município de origem estão apresentados na tabela 3. A maior frequência de casos positivos foi detectada em machos (18,75%) que em fêmeas (9,23%), entretanto não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$). A maior prevalência de positivos foi em animais da raça Nelore (28,57%), seguida da raça Girolando (13,33%) e mestiços (6,9%), não havendo diferença significativa na positividade para *T. vivax* em relação a raça ($p > 0,05$). Foram encontrados focos de tripanossomíase bovina com maior prevalência nas cidades de Alagoa Grande (36,36%), Pilões (21,43%), Areia (10%) e Serraria (7,14%), sem diferença significativa em relação à distribuição espacial da infecção ($p > 0,05$) (Tabela 3).

No que diz respeito ao Volume Globular (VG) Médio dos animais positivos aos exames de PCR, apenas 8,33% (1/12) apresentava VG abaixo dos valores de referência. O restante dos animais positivos, 91,67% (11/12) apresentava valores de VG dentro dos padrões da normalidade que varia de 24 a 46% (JAIN, 1993). Deve-se destacar que não houve correlação entre o valor de VG e a positividade para *T. vivax* ($p > 0,05$). Entretanto, Batista *et al.* (2008) relataram hematócrito baixo em um surto na Paraíba.

Tabela 3 - Distribuição dos resultados dos exames de PCR para *T. vivax* em bovinos da microrregião do brejo paraibano de acordo com o sexo, raça e município.

Variáveis	nº examinado	Positivos (PCR)			p
		nº	%	IC 95%	
Sexo					
M	32	6	18,75	8,89 - 35,31	0,2017
F	65	6	9,23	4,3 - 18,71	
Raça					
Mestiço	58	4	6,89	2,71 - 16,43	0,0678
Nelore	21	6	28,57	13,81 - 49,96	
Girolando	15	2	13,33	3,74 - 37,88	
Gir	3	0			
Município					
Alagoa Grande	11	4	36,36	15,17 - 64,62	0,2129
Alagoa Nova	7	0			
Areia	40	4	10	3,96 - 23,05	
Bananeiras	7	0			
Borborema	4	0			
Pilões	14	3	21,43	7,57 - 47,59	
Serraria	14	1	7,14	1,27 - 31,47	

IC = intervalo de confiança p = probabilidade

Fonte: Autoria Própria

2.6 CONCLUSÃO

Estes dados confirmam a presença do *Trypanosoma vivax* na microrregião do brejo paraibano, o que pode representar um problema sanitário para o rebanho bovino da região, tendo em vista que sua evolução é similar a tristeza parasitária bovina causada por *Anaplasma marginale* e *Babesia* spp. O conhecimento da frequência e distribuição destas hemoparasitoses na região pode contribuir para o estabelecimento de estratégias de prevenção e controle da doença, incluindo programa de esclarecimento dos produtores sobre a ocorrência deste parasito na região, o que pode confundir o diagnóstico e tratamento dos animais afetados.

2.7 REFERÊNCIAS

- ANDRADE NETO, A. Q. de; MENDONÇA, C. L. de; SOUTO, R. J. C.; SAMPAIO, P. H.; JUNIOR, O. L. F.; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z.; AFONSO, J. A. B. Diagnostic, Clinical and Epidemiological aspects of dairy cows naturally infected by *Trypanosoma vivax* in the states of Pernambuco and Alagoas, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. e094319, 2019. Disponível em: <https://rbmv.org/BJVM/article/view/943>. Acesso em: 20 jul. 2022.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat 5.3**: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas. Sociedade Civil Mamirauá: Belém, Pará-Brasil. 2007. 324p. Disponível em: <https://www.mamiraua.org.br/downloads/programas/>. Acesso em: 20 abr. 2021.
- BATISTA, J.S.; BEZERRA, F.S.B.; LIRA, R.A.; CARVALHO, J.R.G.; ROSADO NETO, A.M.; PETRI, A.A.; TEIXEIRA, M.G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.1, p. 63-69, jan. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/DWV7cnXG7rHhqnGrQffdw/?lang=pt>. Acesso em: 10 de jun de 2020.
- BATISTA, J.S.; RODRIGUES, C.M.F.; OLINDA, R.G. et al. **Highly debilitating natural Trypanosoma vivax infections in Brazilian calves: epidemiology, pathology, and probable transplacental transmission**. *Parasitol Res*, n.110, p.73–80, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2452-y>
- BATISTA, J.S.; MOURA, G.H.F.; LOPES, F.C.; de PAIVA, K.H.R.; JÚNIOR, H.N.A.; GÓIS, R.C.S.; COSTA, C.M.F.M.; COELHO, W.A.C.; FREITAS, C.I.A Risk factors for trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle raised in Rio Grande do Norte state. **Arquivos do Instituto Biológico [online]**. 2018, v.85. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000232016>.
- BATISTA, J.S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M.M.G.; MADRUGA, C.R.; SIMÕES, D.V.; MAIA, T.F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, p.143, n.2, p.174-81, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16965857/>. Acesso em: 10 de jun de 2020.
- CADIOLI, F.A.; BARNABÉ, P. A. ; ROSANGELA ZACARIAS MACHADO, R. Z. ; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H. ; FIDÉLIS JUNIOR, O. L. ; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 118-124, abr.-jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000200009>.
- CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais.

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/abmvz/a/j5vJtQZxhNn5Z7Lp66vfr3x/?lang=pt>. Acesso em: 15 de jun de 2020.

CHAGAS NETO, P.; ARAÚJO, L. E. de. Avaliação espaço-temporal da precipitação da microrregião do brejo paraibano. **Revista Brasileira de Climatologia**, [S.l.], v. 21, out. 2017. ISSN 2237-8642. Disponível em:

<https://revistas.ufpr.br/revistaabclima/article/view/52904>. Acesso em: 20 jul. 2022.

DÁVILA, A. M. R.; HERRERA, H. M.; SCHLEBINGER, T.; SOUZA, S. S.; TRAUB-CSEKO, Y.M. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomosis in the Pantanal. **Brazilian Veterinary Parasitology**, v.117, p.1–13.

2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14597273/>. Acesso em: 10 de jul. 2022.

FRANGE, R.C. Tripanossomíase em Vacas Da Microrregião de Uberaba – MG:

Estudo Soroepidemiológico e Relato De Surto. 2013. 76p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba. Uberaba-MG, 2013. Disponível em:

<https://revistas.uniube.br/index.php/anais/article/view/810>. Acesso em: 02 de jun. 2020.

GARDINER, P.R.; ASSOKU R, K.G.; WHITELAW, D.D.; MURRAY, M.

Haemorrhagic lesions resulting from *Trypanosoma vivax* infection in Ayrshire cattle.

Vet. Parasitol. v.31, n. 3-4, p. 187-198, 1989. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2763442/>. Acesso em: 05 de jun. 2020.

GAUNT, S.D. Hemolytic anemias caused by blood rickettsial agents and protozoa. In: FELDMAN, B.F. et al. Schalm's veterinary hematology. Philadelphia: **Lippincott**. cap.27, p.154-162, 2000.

GEYSEN, D.; DELESPAUX, .; GEERTS, S. PCR–RFLP using *Ssu*-rDNA amplification as an easy method for species-specific diagnosis of *Trypanosoma*

species in cattle. **Vet Parasitol.**; v.110, n.3-4, p.171-180. 2003. PMID:12482646.

Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00313-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00313-8). Acesso em: 20 Jul. 2022.

GOMES, H.C.S.F.; GENIPAPEIRO, I.L .J.; ANDRADE, F.T.; BARBOSA,

D.C.V; PACHECO, L.R; SILVA, R.P.B.; PATROCÍNIO, E.; BARBOSA, C. J.; RIBAS, J.R.L.; BARBOSA, L.V. First detection of *Trypanosoma vivax* in cattle in the state of

Bahia, Brazil, based on parasitological and molecular analyses. **Semina Ci. agr.**, 42(3,supl. 1): 2065-2072, 2021. DOI: 10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p2065

GONZATTI, M.I.; GONZÁLEZ-BARADAT, B.; ASO, P.M. et al. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax* and Trypanosomosis in Latina America:

Secadera/Huequera/Cacho Hueco. In: MAGEZ, S.; RADWANSKA, M.

Trypanosomes and Trypanosomiasis. **Springer-Verlag Wien**, London, 2014.

Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-7091-1556-5_11. Acesso 23 mai. 2020.

JAIN, N. C. Essentials of veterinary hematology. Pennsylvania: **Lea &Febiger**, 989p. 1993.

JONES, T.W.; DAVILA, A.M.R. Trypanosoma vivax - out of África. **TRENDS in Parasitology**, v.17, n.2, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11228017/>. Acesso em 20 jun. 2020.

LIMA, A. M. A. et al. Percepção sobre o conhecimento e profilaxia das zoonoses e posse responsável em pais de alunos do pré-escolar de escolas situadas na comunidade localizada no bairro de Dois Irmãos na cidade do Recife (PE). **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15, Suppl. 1, p. 1457-1464, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/cs75fyHmkLtg4RrxyFcvymd/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 13 de jun. 2020.

LOPES, S. T. P.; PRADO B. S.; MARTINS, G. H. C.; BESERRA, H E. A.; SOUSA FILHO, M. A. C; EVANGELISTA; L. S. M., CARDOSO, J. F.S.; MINEIRO, A. L. B. B.; SOUZA, J. A. Trypanosoma vivax em bovino leiteiro. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.46, Suppl. 1.p. 1-5, 2018. Disponível em: http://www.ufrgs.br/actavet/46-suple-1/CR_287.pdf. Acesso em: 25 de jun. 2020.

MADRUGA, C.R. Diagnóstico e epidemiologia do Trypanosoma (Duttonella) vivax no Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 13, Suppl. 1, p. 46-47, 2004.

MENESES, R. M. **Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011: soroprevalência e fatores de risco**. 2016, 61p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária- UFMG, Belo Horizonte- MG, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/SMOC-AAQNS4>. Acesso em: 10 mai. 2020.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKASATO, L.; BRUM, K. B.; BERNADO, K. C.; MADRUGA, C. R.; SCHENK, M. A. Trypanosoma vivax em bovinos no Pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil: II – Inoculação Experimental. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 143-148, 2000. Disponível em: http://ufrj.br/rbpv/922000/c92135_141.pdf. Acesso 10 de mai. 2020.

PEREIRA, H.D.; Simões, S. V. D.; Souza, F. A. L.; Silveira, J. A. G.; Ribeiro, M. F.B.; Cadioli, F. A.; Sampaio, P. H. Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico da infecção por Trypanosoma vivax em rebanho bovino no estado do Maranhão. **Pesq. Vet. Bras.** 38(5):896-901, maio 2018. doi:10.1590/1678-5150-PVB-5303.

RISTOW, L. E.; JÁCOMÉ, D. O. Métodos Diagnósticos para pesquisa de Hemoparasitas: Revisão de Literatura. **TECSA Laboratórios**, 23 maio de 2016. Disponível em: <https://www.anclivepaam.com/single-post/2016/05/23/m%C3%A9todos-diagn%C3%B3sticos-para-pesquisa-de-hemoparasitas-revis%C3%A3o-de-literatura>. Acesso em: 05 jul. 2021.

SANTOS, G. B. **Estudo epidemiológico da tristeza parasitária bovina em rebanhos dos municípios de Petrolina e Ouricuri, estado de Pernambuco**. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2013. Disponível em: <http://www.univasf.edu.br/~tcc/000007/00000739.pdf>. Acesso em 11 jul. 2021.

SCHENK, M.A.M.; MENDONÇA, C.L.; MADRUGA, C.R.; KOHAYAGAWA, A.; ARAÚJO, F.R. Avaliação clínico laboratorial de bovinos Nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.21, n.4, p. 157-161. 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/qzXCM85HK9xR9hmJYWzNwPy/?lang=pt>. Acesso 14 mai. 2020.

SILVA, C. C. **Estudo parasitológico, sorológico e molecular de amostras de sangue de bovinos encaminhadas ao Hospital Veterinário de Uberaba com suspeita clínica de tripanossomíase por *Trypanosoma vivax***. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Uberaba-UNIUBE. Uberaba-MG, 2018. Disponível em: <https://repositorio.uniube.br/handle/123456789/583>. Acesso em 10 jul. 2022..

SILVA, R.A.M.S.; PELLEGRIN, A.O.; LIMA, E.S.S.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A.M.R. Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-Grossense e Bolívia. **Embrapa**, Corumbá-MS, p.01-21, 2004. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/784108/abortos-por-trypanosoma-vivax-no-pantanal-mato-grossense-e-bolivia>. Acesso em: 15 mai. 2020.

SNACK, A.; LARA, A.A.; GARCIA, F.G.; PIERI, E.M.; SILVEIRA, J.A.G. da; OSAKI, S.C. Prevalence study on *Trypanosoma vivax* in dairy cattle in the Western region on the State of Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.39, n.1, 2018, pp. 425-430. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n1p425>

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

THRUSFIELD, M. V. **Epidemiologia Veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2004. 556p.

VARGAS T.M.; ARELLANO S.C. La tripanosomiasis bovina en América Latina y el Caribe. **Veterinaria (Montevideo)**, v.33, p.17-21, 1997.

ZAPATA SALAS, R.; CARDONA ZULUAGA, E.A.; REYES VÉLEZ, J.; TRIANA CHÁVEZ, O.; PEÑA GARCÍA, V.H.; RÍOS OSORIO, L.A.; BARAHONA ROSALES, R.; POLANCO ECHEVERRY, D. Tripanosomiasis bovina en ganadería lechera de trópico alto: primer informe de *Haematobia irritans* como principal vector de *T. vivax* y *T. evansi* en Colombia. **Rev. Med. Vet.**, Bogotá, n. 33, p. 21-34, Jan. 2017. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542017000100021&lng=en&nrm=iso. Acesso em 22 Jul 2022.

**3 CAPÍTULO II – PREVALÊNCIA DE HEMOPARASITOS EM BOVINOS NA
MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO.**

(Artigo submetido –Revista Ciência Animal ISSN: 1678-4596)

**PESQUISA DE HEMOPARASITOS EM BOVINOS NA MICRORREGIÃO DO
BREJO PARAIBANO
HEMOPARASITES RESEARCH IN CATTLE IN THE BREJO PARAIBANO
MICROREGION**

Dayana Inocência da Costa^{*1}, Alberto Luiz Freire de Andrade Júnior², Valeska Shelda Pessoa de Melo³, Danila Barreiro Campos³, Alexandre José Alves³, Péricles de Farias Borges⁴, Inácio José Clementino³.

1- Médica Veterinária, Mestranda em Ciência Animal pela Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Campus II, Via PB 079, Km12, 58397-000, Areia-PB, Brasil.

2 Médico Veterinário, M.Sc. em Produção Animal. Docente do Curso de Medicina Veterinária pela UNINASSAU, Campus Natal, Avenida Engenheiro Roberto Freire, 1514 – Capim Macio Natal – RN, 59080-400.

3 Professor Doutor (Doutora) Adjunto do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade Federal da Paraíba. Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Campus II, Via PB 079, Km12, 58397-000, Areia-PB, Brasil.

4 Professor Doutor. Adjunto do Departamento de Ciências Fundamentais e Sociais da Universidade Federal da Paraíba. Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Campus II, Via PB 079, Km12, 58397-000, Areia-PB, Brasil.

*Autor para correspondência: Tel.: +55 83 99654 5018

E-mail: veteriday@gmail.com

3.1 RESUMO

As hemoparasitoses causadas por *Babesia* spp., *Anaplasma marginale* (causadores da tristeza parasitária bovina – TPB), e *Trypanosoma vivax* podem causar sérios prejuízos sanitários e econômicos para a bovinocultura. Por isso é fundamental o conhecimento da sua frequência e distribuição. Sendo assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a prevalência de hemoparasitos em bovinos na microrregião do Brejo Paraibano. O trabalho foi realizado em propriedades criadoras de bovinos da microrregião do brejo paraibano. O trabalho de campo foi realizado no período de março a novembro de 2021. Foram sorteadas 23 propriedades da lista de criadores fornecida pela Defesa Agropecuária da Paraíba e colhidas 183 amostras de sangue total com anticoagulante de bovinos de ambos os sexos a partir de seis meses de idade. A pesquisa de hemoparasitos foi realizada a partir das técnicas de esfregaço sanguíneo e técnica de Woo com observação direta em microscópio ótico e determinação do hematócrito dos animais. A prevalência de bovinos infectados por hemoparasitos foi de 63,4% (116/183), 33,3% (61/183) estavam infectados por *Babesia* spp., 53% (97/183) por *A. marginale* e a infecção mista, *Babesia* spp. e *A. marginale* estava presente em 22,9% (42/183) dos animais. A infecção por *T. vivax* foi observada em um animal (0,5%). O hematócrito dos animais infectados pelos agentes da TPB foi significativamente menor que os não infectados. Conclui-se que a microrregião do Brejo Paraibano possui alta prevalência de hemoparasitas de bovinos, sendo o *Anaplasma marginale* a espécie mais prevalente, seguida de *Babesia* spp. e, em menor frequência, *T. vivax*.

Palavras-chave: anaplasmose; babesiose; hemoparasitoses; tripanossomíase bovina; tristeza parasitária bovina.

3.2 ABSTRACT

Hemoparasitosis caused by *Babesia* spp., *Anaplasma marginale* (causing bovine parasitic sadness - BPD), and *Trypanosoma vivax* can cause serious health and economic damage to cattle. Therefore, it is essential to know their frequency and distribution. Therefore, this study aimed to evaluate the prevalence of hemoparasites in cattle in the microregion of Brejo Paraibano. The work was carried out in cattle raising properties in the micro-region of the Paraíba swamp. The fieldwork was carried out from March to November 2021. 23 properties were drawn from the list of breeders provided by the Agricultural Defense of Paraíba and 183 samples of whole blood with anticoagulant from bovines of both sexes were collected from six months of age. The search for hemoparasites was performed using blood smear and Woo technique with direct observation under an optical microscope and determination of the animals' hematocrit. The prevalence of cattle infected with hemoparasites was 63.4% (116/183), 33.3% (61/183) were infected with *Babesia* spp., 53% (97/183) with *A. marginale* and mixed infection, *Babesia* spp. and *A. marginale* was present in 22.9% (42/183) of the animals. *T. vivax* infection was observed in one animal (0.5%). The hematocrit of animals infected by TPB agents was significantly lower than that of uninfected animals. It is concluded that the Brejo Paraibano microregion has a high prevalence of bovine hemoparasites, with *Anaplasma marginale* being the most prevalent species, followed by *Babesia* spp. and, to a lesser extent, *T. vivax*.

Keywords: anaplasmosis; babesiosis; hemoparasitosis; bovine trypanosomiasis; bovine parasitic sadness.

3.3 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o segundo maior rebanho de bovinos do mundo, o que corresponde a 18% do rebanho mundial (MALAFAIA *et al.*, 2019). No ano de 2020, esse rebanho era formado por 218,1 milhões de cabeças, sendo 0,6% (1.344.094 cabeças) no estado da Paraíba, onde a microrregião do Brejo Paraibano possui 60.722 cabeças (IBGE, 2020). Com todo este rebanho deve-se destacar que problemas sanitários podem afetar negativamente a expansão da pecuária bovina, com destaque para as doenças infecciosas e parasitárias (STOTZER *et al.*, 2014).

Neste contexto, as hemoparasitoses como babesiose e anaplasmose, causadores da tristeza parasitária bovina (TPB) e a tripanossomíase bovina possuem grande importância, pois podem reduzir os lucros e até mesmo inviabilizar a atividade produtiva (COSTA *et al.*, 2021; LOPES *et al.*, 2018).

A TPB é um complexo de doenças parasitárias que possuem sinais clínicos e epidemiologias semelhantes, causadas por protozoários, *Babesia bovis* ou *B. bigemina* e a bactéria *Anaplasma marginale*, ambos transmitidos biologicamente pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e, mecanicamente, pelas moscas hematófagas (*Stomoxys calcitrans*, *Haematobia irritans*, tabanídeos e culicídeos) (ARAÚJO *et al.*, 2021; PIAU JUNIOR *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2021). A *Babesia* pode ser transmitida por via transplacentária (DANTAS, 2018) e o *Anaplasma* por via iatrogênica ou transplante de embriões (COSTA *et al.*, 2021; KIKUGAWA, 2009).

A tripanossomíase causada pelo protozoário *Trypanosoma vivax*, nas Américas, é transmitida por vetores mecânicos como tabanídeos, *S. calcitrans* e *H. irritans* e pela via iatrogênica (CADIOLI *et al.*, 2012).

Estas hemoparasitoses, principalmente a TPB, ocorrem em todo o território nacional, cuja frequência varia de acordo com a população de vetores, que são influenciadas pelas condições edafoclimáticas (COSTA *et al.*, 2018; PAULA *et al.*, 2015; MAHONEY; ROSS, 1972), com áreas de instabilidade enzoótica no sertão paraibano (COSTA *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2018). A tripanossomíase bovina está presente em vários estados brasileiros (ANDRADE NETO *et al.*, 2019; GUERRA *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2018), com o primeiro diagnóstico no sertão da Paraíba no ano de 2002 (BATISTA *et al.*, 2007).

O diagnóstico das hemoparasitoses baseia-se nos dados epidemiológicos, nos sinais clínicos, nas lesões observadas à necrópsia e, principalmente nos exames laboratoriais, sendo o esfregaço sanguíneo o método mais antigo e rotineiramente utilizado no diagnóstico das hemoparasitoses. Na fase aguda a parasitemia é elevada e os parasitos são facilmente detectados, enquanto na fase de portador, a parasitemia é baixa e o método direto é menos sensível. Outras técnicas diagnósticas mais sensíveis e/ou específicas são os testes sorológicos (reação de fixação de complemento – FC, imunofluorescência, ensaio de imunoabsorção enzimática indireta (ELISA) e, mais recentemente, métodos moleculares (MADRUGA *et al.*, 2004; KIKUGAWA, 2009; PAULA *et al.*, 2015; SANTOS, 2013; SILVA *et al.*, 2021).

Estudar a epidemiologia das hemoparasitoses em uma região é importante para verificar o risco de instabilidade enzoótica e através disso verificar a necessidade de adoção de intervenções sanitárias mediante surtos dessas doenças (MADRUGA *et al.*, 2004). Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência de hemoparasitos em bovinos na microrregião do Brejo Paraibano.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em propriedades rurais criadoras de bovinos situadas na microrregião do Brejo Paraibano, composta pelos municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria. A precipitação média mensal de 95,9 mm, variando de 18,2 mm (mês mais seco em outubro) a 184,9 mm (mês mais chuvoso em junho) (CHAGAS NETO; ARAÚJO, 2017).

As propriedades foram selecionadas por sorteio, de acordo com uma listagem de criadores de bovinos cadastrados no sistema da Defesa Agropecuária do Estado da Paraíba. A população amostral foi composta por bovinos de ambos os sexos, com idade a partir dos seis meses. O tamanho amostral foi calculado considerando-se os seguintes parâmetros: prevalência esperada de 13,93% (GUERRA *et al.*, 2013), nível de confiança de 95% e um erro estatístico de 5% e uma população infinita, utilizando-se a fórmula para cálculo de amostras aleatórias (THRUSFIELD, 2004). O número calculado foi de 183 animais, os quais foram selecionados de 23 criadores sorteados de forma aleatória.

As visitas para avaliação dos animais e colheita das amostras foram realizadas no período de março a novembro de 2021. Foi colhido sangue, por punção da veia jugular externa, usando sistema de coleta a vácuo e tubos de 5 mL com EDTA. As amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Hospital Universitário Veterinário do CCA-UFPB, localizado em Areia-PB, para processamento imediato. Foi realizada a pesquisa direta de hemoparasitos pelas técnicas de esfregaço sanguíneo (THRALL *et al.*, 2015) e microhematócrito, também conhecida como Técnica de Woo (WOO, 1969). Os esfregaços foram fixados com

metanol e corados com Giemsa e realizada a leitura em microscópio óptico utilizando a objetiva de 100x com óleo de imersão. As leituras foram feitas por dois microscopistas diferentes e, caso houvesse divergência entre os resultados, um terceiro microscopista fazia a avaliação final.

Para a determinação do volume globular foram preenchidos tubos capilares de vidro e alocados em centrífuga para microhematócrito por 10 minutos com rotação de 15.000 rpm. Após a centrifugação, procedeu-se a leitura com o auxílio do cartão de microhematócrito (JAIN, 1993).

Os dados quantitativos com distribuição normal foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os dados com distribuição multinomial foram submetidos à Análise de Deviance (ANODEV) por modelo linear generalizado, considerando-se a distribuição multinomial e o link da função igual a logit cumulativo (SCHABENBERGER; PIERCE, 2001). De acordo com a significância do teste qui-quadrado (Chi-squared test), em até 5% de probabilidade de erro, as probabilidades de distribuição das categorias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para os dados com distribuição binomial, considerou-se a função binomial com o link igual a logit.

Os dados foram representados por média $\pm$ desvio padrão, exceto para os dados multinominais que foram representados pelas probabilidades de ocorrência de cada categoria. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software estatístico R Core Team (2022).

A avaliação da positividade para hemoparasitos e o VG % foi realizada pelo teste de correlação de Spearman utilizando-se o software BioEstat 5.3 (AYRES *et al.*, 2007).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amostrados 183 animais provenientes de 23 rebanhos de sete municípios da microrregião do brejo paraibano. Os resultados da prevalência de focos e de animais estão apresentados na tabela 1. Infecção por hemoparasitos estava presente em 91,3% (21/23) dos rebanhos estudados, sendo 69,6% (16/23) estavam infectados por *Babesia* spp., 82,6% (19/23) eram positivos para *Anaplasma marginale* e a infecção mista (TPB por *Babesia* spp. e *A. marginale*) estava presente em 60,9% (14/23) dos rebanhos. Em um (4,3%) rebanho havia presença de *T. vivax*.

Tabela 1 - Prevalências de hemoparasitos em rebanhos e bovinos da microrregião do brejo paraibano de acordo com o tipo de hemoparasito.

Parasitos	Rebanhos (n=23)			Bovinos (n =183)		
	Positivos			Positivos		
	nº	%	[IC] 95%	nº	%	[IC] 95%
<i>Babesia</i> spp.	16	69,6	[49,1 - 84,4]	61	33,3	[26,9 - 40,7]
<i>Anaplasma marginale</i>	19	82,6	[62,7 - 93]	97	53	[45,8 - 60,4]
TPB (<i>Babesia</i> spp. e <i>A. marginale</i>)	14	60,9	[40,8 - 77,8]	42	22,9	[17,5 - 29,6]
<i>T. vivax</i>	1	4,3	[0,8 - 21]	1	0,5	[0,1 - 3]
Total infectados por hemoparasitoses	21	91,3	[73,2 - 97,6]	116	63,4	[56,2 - 70]

[IC] = intervalo de confiança

Fonte: Autoria Própria

A prevalência de bovinos infectados por hemoparasitos foi de 63,4% (116/183), 33,3% (61/183) estavam infectados por *Babesia* spp., 53% (97/183) por *A. marginale* e a infecção mista, *Babesia* spp. e *A. marginale* estava presente em 22,9% (42/183) dos animais.

De acordo com Mahoney; Ross (1972), regiões com prevalência de infecção pelos agentes da tristeza parasitária bovina (*Babesia* spp. e *Anaplasma* sp.) entre 20% e 75%, em bovinos acima dos nove meses de idade, estão em instabilidade enzoótica, podendo-se sugerir que a microrregião do brejo paraibano se encontra nesta situação. Outros trabalhos com pesquisa direta de hematozoários encontraram

prevalências de 39,7% para *A. marginale* e 12,2% para *Babesia* spp. no Rio Grande do Sul (CUNHA *et al.*, 2017) e, em Minas Gerais, 52,5% para *Babesia* spp., 25% para *A. marginale*, 10% para TPB, sendo a infecção por hemoparasitos totais presente em 67,5% dos animais analisados (PAULA *et al.*, 2015), 36,3% para *A. marginale* e 2,7% para *Babesia* spp. (BAHIA *et al.*, 2020). No Espírito Santo encontrou-se prevalências de 39% para *Babesia* spp. e *A. marginale*, sendo a infecção mista presente em 20% dos animais (JUNIOR *et al.*, 2008). Estes trabalhos mostram que, como na área investigada neste trabalho, as regiões avaliadas encontram-se classificados como áreas de instabilidade enzoóticas.

Altas prevalências de bovinos portadores de hemoparasitos (tabela 1) encontrados neste estudo já poderiam ser esperadas, tendo em vista que durante as visitas foi observada uma intensa presença de moscas-do-chifre (*Haematobia irritans*) no dorso dos animais e os proprietários ou os tratadores relataram presença de mutucas (tabanídeos) e de moscas-dos-estábulos (*Stomoxys calcitrans*), possíveis transmissores mecânicos do *A. marginale* (KOCAN *et al.*, 2010). Além disso, os criadores ou tratadores relataram ser comum a aplicação de carrapaticidas nos animais na tentativa de eliminar as moscas. Entretanto, Kessler (2001) afirmou que este produto não tem ação efetiva sobre as moscas, além de possuírem um curto período residual a campo (cerca de 9 dias), podendo causar efeito reverso, aumentando significativamente o parasitismo pelas moscas-dos-chifres, favorecendo, assim, a transmissão do *A. marginale* (ARAÚJO *et al.*, 2021). Além disso, o uso do carrapaticida seria uma possível justificativa para a pouca observação de carrapatos nos animais no momento das coletas, e sendo assim, a baixa transmissão e prevalência da *Babesia* spp. (PAULA *et al.*, 2015).

Apesar do uso frequente de carrapaticidas relatado pelos produtores, a região apresenta condições climáticas favoráveis a manutenção de carrapatos, contribuindo para a manutenção da infecção por *Babesia* spp. e *A. marginale*, uma vez que o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é o principal transmissor destes hemoparasitos e estudo realizado no Pernambuco mostrou que, das amostras de carrapatos, 5,8% estavam infectadas por *Babesia* spp. e 23,3% por *A. marginale* (SANTOS *et al.*, 2017). Os métodos profiláticos dos rebanhos bovinos devem ser eficazes para o controle dos ectoparasitos, que devem ser mantidos nos rebanhos de forma discreta e acompanhada por profissional capacitado, a fim de que as hemoparasitoses permaneçam nos rebanhos de forma discreta, conferindo aos animais resistência imunológica.

Neste trabalho usou-se o sangue total obtido por punção jugular para a realização da pesquisa de hematozoários, que conforme Santos *et al.*, (2013) é menos sensível para pesquisa direta de hemoparasitos em bovinos e, mesmo assim, observou-se prevalências semelhantes ou superiores às citadas por outros estudos com pesquisa direta do parasita realizados no Brasil (BAHIA *et al.*, 2020; CUNHA *et al.*, 2017; JUNIOR *et al.*, 2008; PAULA *et al.*, 2015) e no Equador (GUAMÁN-QUINCHE *et al.*, 2020). Apesar de menos sensível, a pesquisa de hemoparasitos utilizando amostras de sangue colhidos da veia jugular pode ser usada para monitoramento da condição da infecção do rebanho, tendo apresentado, neste estudo, inclusive resultados semelhantes aos observados por Santos *et al.* (2017) no Pernambuco que usaram teste sorológico de RIFI.

Além dos agentes da TPB, foi possível identificar a presença de um rebanho com um animal infectado por *T. vivax* (tabela 1). Tratava-se de uma fêmea mestiça que estava clinicamente saudável no dia da visita. Este fato chama a atenção para a

existência de animais portadores de *T. vivax* na região do brejo paraibano, a exemplo da existência de infecção por este agente no sertão do estado desde o ano de 2002 (BATISTA *et al.*, 2007). Nas propriedades investigadas era frequente a presença de moscas hematófagas e ainda o compartilhamento de agulha no manejo de vacinação dos animais, podendo contribuir para a transmissão deste parasito (CADIOLI *et al.*, 2012), com possível instalação de surto e prejuízos para a pecuária regional.

A prevalência de bovinos infectados por hemoparasitos de acordo com sexo, raça e município de origem estão apresentadas na tabela 2. Não houve diferença estatística significativa em relação à positividade para *Babesia* spp., *A. marginale*, TPB (infecção mista por *Babesia* spp. + *A. marginale*) e total infectados por hemoparasitos), corroborando com os achados de Santos *et al.* (2017).

Da mesma forma, não foi verificada diferença estatística entre a positividade para hemoparasitos e a raça dos animais ($p > 0,05$). Destaca-se que a maioria dos animais deste estudo eram mestiços (58,5%) e nelore (22,4%). Os animais mestiços (sem raça definida) são resultado do cruzamento de um animal de raça taurina com um animal de raça zebuína. Esses cruzamentos são realizados com o objetivo de obter um animal que tenha a resistência e adaptação ao clima da região (animal zebuino), e que conserve a capacidade produtiva do animal de raça taurina. O gado zebuino é naturalmente mais resistente aos carrapatos e aos dípteros hematófagos (vetores biológicos e mecânicos, respectivamente), portanto, ao realizar esses cruzamentos, obtém-se animais que sejam resistentes a estes artrópodes, e consequentemente, terão susceptibilidade intermediária aos hemoparasitos, como o afirmado por Costa *et al.*, (2011) e Piau Junior *et al.*, (2013).

Tabela 2 - Prevalência de hemoparasitoses em bovinos criados na microrregião do Brejo Paraibano, de acordo com sexo, raça e município.

Variáveis	nº animais	<i>Babesia</i> spp. *		<i>Anaplasma marginale</i> *		TPB (<i>Babesia</i> spp. e <i>A. marginale</i>) *		Total infectados por hemoparasitoses *	
		% (n)	[IC] 95%	% (n)	[IC] 95%	% (n)	[IC] 95%	% (n)	[IC] 95%
Sexo									
Macho	63	31,7 a (20)	[21,6– 44]	46,0 a (29)	[34,3 - 58,2]	23,8 a (15)	[15,0 - 35,6]	54,0 a (34)	[41,8 - 65,7]
Fêmea	120	34,2 a (41)	[26,3 - 43,0]	56,7 a (68)	[47,7 - 65,2]	22,5 a (27)	[15,9 - 30,8]	68,3 a (82)	[59,5 - 76,0]
Raça									
Mestiço	107	33,6 a (36)	[25,4 - 43,0]	43,9 a (47)	[34,9 - 53,4]	16,8 a (18)	[10,9 - 25,0]	60,7 a (65)	[51,3 - 69,5]
Nelore	41	29,3 a (12)	[17,6 - 44,5]	56,1 a (23)	[41,0 - 70,1]	26,8 a (11)	[15,7 - 41,9]	58,5 a (24)	[43,4 - 72,2]
Girolando	28	35,7 a (10)	[20,7 - 54,2]	75,0 a (21)	[56,6 - 87,3]	35,7 a (10)	[20,7 - 54,2]	75,0 a (21)	[56,6 - 87,3]
Gir	7	42,9 a (3)	[15,8 - 74,9]	85,7 a (6)	[48,7 - 97,4]	42,9 a (3)	[15,8 - 74,9]	85,7 a (6)	[48,7 - 97,4]
Município									
Alagoa Grande	40	30,0 ab (12)	[18,1 - 45,4]	72,5 a (29)	[57,2 - 83,9]	27,5 a (11)	[16,1 - 42,8]	75,0 a (30)	[59,8 - 85,8]
Alagoa Nova	7	0,0 ab (0)	[0,0 - 35,4]	100 ab (7)	[64,6 – 100]	0,0 a (0)	[0,0 - 35,4]	100 ab (7)	[64,6 – 100]
Areia	84	33,3 ab (28)	[24,2 - 43,9]	51,2 ab (43)	[40,7 - 61,6]	26,2 a (22)	[18 - 36,5]	58,3 ab (49)	[47,6 - 68,3]
Bananeira s	8	75,0 a (6)	[40,9 - 92,8]	50,0 ab (4)	[21,5 - 78,5]	25,0 a (2)	[7,1 - 59,1]	100 ab (8)	[67,6 – 100]
Borborema	6	83,3 ab (5)	[43,6 - 97]	0,0 ab (0)	[0 - 39,0]	0,0 a (0)	[0 - 39,0]	83,3 ab (5)	[43,6 – 97,0]
Pilões	14	50,0 ab (7)	[26,8 - 73,2]	64,3 ab (9)	[38,8 - 83,6]	42,9 a (6)	[21,4 - 67,4]	71,4 ab (10)	[45,3 - 88,3]
Serraria	24	12,5 b (3)	[4,3 – 31]	20,8 b (5)	[9,2 - 40,5]	4,2 a (1)	[0,7 - 20,2]	29,2 b (7)	[14,9 - 49,2]

[IC] = intervalo de confiança

* Letras iguais = sem diferença estatística ($p > 0,05$); Letras diferentes = diferença estatística ($p < 0,05$)

Fonte: Autoria Própria.

Em relação ao município de origem, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) nos infectados por *Babesia* spp. com maior frequência no município de Bananeiras (75%) e menor no município de Serraria (12,5%), e em relação a *A. marginale*, destacou-se o município de Alagoa Grande (72,5%) e menor frequência

em Serraria (20,8%). Deve-se destacar que todos os municípios analisados estão situados na microrregião do brejo paraibano e, portanto, apresentam características climáticas como temperatura, umidade e pluviosidade muito semelhantes, propícias para a manutenção da presença do carrapato transmissor dos agentes da TPB (COSTA *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2017).

A Tabela 3 apresenta os resultados dos valores médios do volume globular (VG%) e do coeficiente de correlação de Sperman dos animais analisados de acordo com a presença de infecção por *Babesia* spp., *A. marginale*, TPB, *T. vivax* e total de infectados por hemoparasitos. Observa-se que a média do VG dos animais infectados foi menor que a dos não infectados, com possível correlação entre o VG% e o resultado positivo para *A. marginale*, *Babesia* spp., TPB e hemoparasitos total, utilizando o teste de correlação de Sperman para o nível de significância de 5%, conforme visto na figura 1. Valores de hematócrito significativamente menores nos animais positivos para *A. marginale* e *Babesia* spp. foram relatados em bezerros por Costa *et al.* (2018), no entanto, estes autores usaram a técnica de PCR para o diagnóstico. Já, Bernardo *et al.* (2016) encontraram alterações hematológicas significativas, incluindo baixo VG% em bovinos parasitados por *A. marginale*.

Tabela 3 - Volume globular médio (%) e coeficiente de correlação de Sperman de bovinos, de acordo com os hemoparasitos, criados na microrregião do Brejo Paraibano.

Parasitos	Volume Globular (VG) %				p	Coef.	p
	Positivos		Negativos			Correlação	
	Média	[IC] 95%	Média	[IC] 95%		VG % x Parasitos	
<i>Babesia</i> spp.	27,8 b	[26,4 - 29,2]	30,7 a	[29,7 - 31,6]	<0,0002	-0.437	<0.001
<i>Anaplasma marginale</i>	27,8 b	[26,8 - 28,9]	31,8 a	[30,7 - 32,9]	<0,0001	-0.284	<0.001
TPB (<i>Babesia</i> spp. e <i>A. marginale</i>)	27,2 b	[25,6 - 28,9]	30,4 a	[29,5 - 31,3]	<0,0002	-0.284	<0.001
<i>T. vivax</i>	28 a	[16,8 - 39,2]	29,7 a	[28,9 - 30,5]	0,7326		
Hemoparasitos total	28 b	[27,1 - 29,0]	32,6 a	[31,4 - 33,8]	<0,0001	-0.446	<0.001

[IC] = intervalo de confiança

p = probabilidade

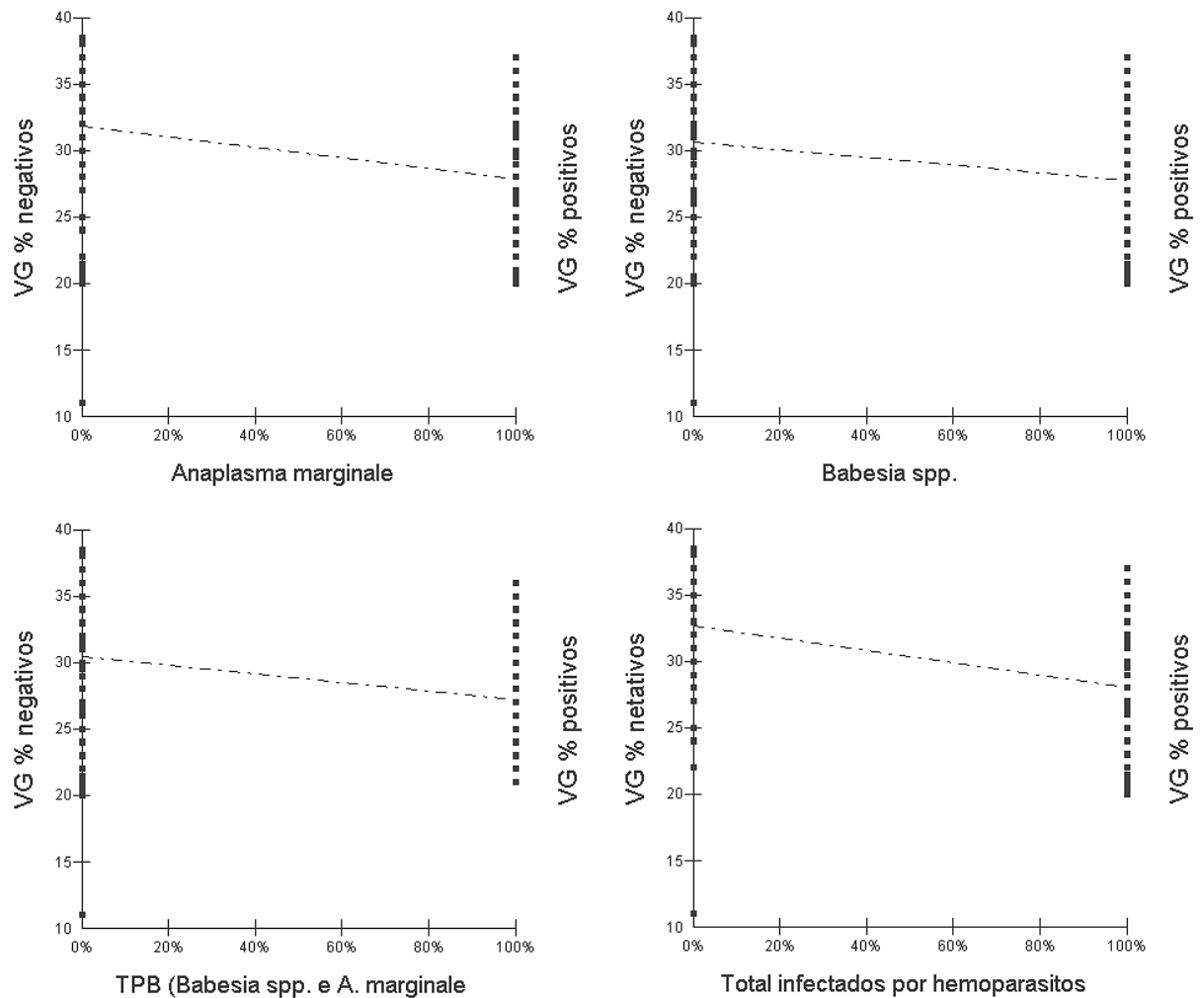
Fonte: Autoria Própria.

Durante as visitas, antes da colheita do material, os animais eram observados para verificação da presença de sinais clínicos aparentes de tristeza parasitária. Dos 183 animais observados, apenas um animal, uma fêmea recém parida de aptidão leiteira, mestiça, de uma propriedade do município de Alagoa Grande, apresentava sinais de apatia e ataxia. O volume globular deste animal foi de 11% e a prevalência de hemoparasitoses nesta propriedade foi de 78,9%. Além disso, foi observada a presença de carrapatos e de moscas-dos-chifres no rebanho. Assim sendo, pode-se concluir que esta vaca estava apresentando sintomatologia clínica sugestiva de hemoparasitose após um episódio de imunodepressão pós-parto, entretanto, apresentou resultado negativo na pesquisa direta de hemoparasitos.

Vale ressaltar que é importante observar e relatar a prevalência de focos da doença, dentro de uma propriedade ou no seu entorno, de um ou mais animais parasitados, pois assim, há indícios da distribuição espacial dos hemoparasitos, o que pode ser útil para a implementação dos programas de controle e profilaxia da doença. Além disso, os dados epidemiológicos irão determinar se a região é de instabilidade ou estabilidade enzoótica, como defende Cunha *et al.* (2017).

Apesar do caso sugestivo da TPB identificado durante a visita, não houve relatos dos proprietários sobre casos recentes da doença. Isso sugere que, apesar da presença de vetores dos hemoparasitos e da presença de animais infectados, mesmo que sem sintomatologia clínica, os rebanhos da região possuem imunidade contra os parasitas, que foi adquirida ainda jovem (LOPES *et al.*, 2021).

Figura 1 - Gráficos de correlação entre o VG% e presença de hemoparasitos em bovinos da microrregião do brejo paraibano.



Fonte: Autoria Própria.

Kikugawa (2009) sugere que os animais que passam por infecção natural ainda jovens (entre 6 e 12 meses de idade), adquirem forte imunidade contra os hemoparasitas, sendo, muitas vezes, assintomáticos quando atingem a idade adulta. A manifestação clínica da doença nestes indivíduos ocorre quando eles passam por situações que causem imunossupressão (LOPES *et al.*, 2021), como o caso que foi relatado. Os autores destacam ainda que os animais nativos de regiões endêmicas possuem resistência genética natural contra algumas enfermidades, especialmente as parasitárias. A imunidade passiva transmitida aos bezerros via colostro de vacas

imunes é responsável pela absorção dos anticorpos (TRINDADE *et al.*, 2011), tendo os animais nesta faixa etária resposta celular mais rápida e eritropoiese intensa (CUNHA *et al.*, 2017), diminuindo a ocorrência de formas clínicas da doença. De acordo com Sacco (2002) tal situação cria uma condição ideal para a imunização natural do rebanho onde animais jovens protegidos através do colostro pelos anticorpos maternos, podem ser inoculados com hemoparasitos através de infestações leves por carrapatos desenvolvendo assim imunidade ativa.

3.6 CONCLUSÃO

A microrregião do Brejo Paraibano possui alta prevalência de hemoparasitas de bovinos, sendo o *Anaplasma marginale* a espécie mais prevalente, seguida de *Babesia* spp. e, em menor frequência, com apenas um animal infectado, *T. vivax*. Os municípios que compõem a microrregião possuem as características enzoóticas favoráveis à disseminação da babesiose e da anaplasmosse nos rebanhos de gado de leite e gado de corte, com potencial para o surgimento de surtos de Tristeza Parasitária Bovina.

DECLARAÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE

Sem conflitos de interesse para declarar.

AGRADECIMENTO(S) E APRESENTAÇÃO;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Este trabalho trata-se de uma pesquisa sobre as hemoparasitoses causadoras da tristeza parasitaria bovina (TPB) ocorrentes na microregião do Brejo Paraibano, no intuito de avaliar a situação atual da doença na região e assim contribuir com dados atuais que possam servir como parâmetro para a adoção de medidas sanitárias efetivas.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Os autores contribuíram igualmente para o manuscrito.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA–UFPB) sob o protocolo CEUA nº 2113050520.

3.7 REFERÊNCIAS

- ANDRADE NETO, A. Q. de; MENDONÇA, C. L. de; SOUTO, R. J. C.; SAMPAIO, P. H.; JUNIOR, O. L. F.; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z.; AFONSO, J. A. B. Diagnostic, Clinical and Epidemiological aspects of dairy cows naturally infected by *Trypanosoma vivax* in the states of Pernambuco and Alagoas, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. e094319, 2019. Disponível em: <https://rbmv.org/BJVM/article/view/943>. Acesso em: 20 jul. 2022.
- ARAÚJO, T. R.; MOTA JÚNIOR, M. A. L.; VILELA, T. S.; BITTECOURT, A. J.; SANTOS, H. A.; FAMPA, P. First report of the presence of *Anaplasma marginale* in different tissues of the stable-fly *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 23, 100515, 2021.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat 5.3**: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas. Sociedade Civil Mamirauá: Belém, Pará-Brasil. 2007. 324p. Disponível em <https://www.mamiraua.org.br/downloads/programas/> Acesso em 20 abr. 2021.
- BAHIA, M.; SILVA, J.S.; GONTIJO, I.S.; CORDEIRO, M.D.; SANTOS, P.N.; SILVA, C.B.; et al. Characterization of cattle tick fever in calves from the northwestern region of Minas Gerais, Brazil. **Braz J Vet Parasitol**, 29(1): e017119. 2020. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/S1984-29612020011>.
- BATISTA, J.S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M.M.G.; MADRUGA, C.R.; SIMÕES, D.V.; MAIA, T.F. Trypanosomiasis vivax in cattle in the Brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, p.143, n.2, p.174-81, 2007.
- BERNARDO, F.D.; CONHIZAK, C.; AMBROSINI, F.; DA SILVA NETO, A.F.; FREITAS, F.L.C.; FRANCISCATO, C. Alterações hematológicas e bioquímicas causadas por *Anaplasma marginale* em bovinos com aptidão leiteira da região Sudoeste do Paraná. **R. Bras. Ci. Vet.**, v. 23, n. 3-4, p. 152-156, jul./dez. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2016.048> Acesso em: 20 jul. 2022.

CADIOLI, F.A.; BARNABÉ, P. A. ; ROSANGELA ZACARIAS MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS JUNIOR. O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of Trypanosoma vivax outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 118-124, abr.-jun. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S198429612012000200009>>. Acesso em: 20 jul. 2022.

CHAGAS NETO, P.; ARAÚJO, L. E. de. Avaliação espaço-temporal da precipitação da microrregião do brejo paraibano. **Revista Brasileira de Climatologia**, [S.l.], v. 21, out. 2017. ISSN 2237-8642. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/revistaabclima/article/view/52904>>. Acesso em: 20 jul. 2022.

COSTA, M. O. et al. Os desafios do complexo da tristeza parasitária bovina – TPB. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, e58010616148, 2021.

COSTA, V. M. M.; RODRIGUES, A. L.; MEDEIROS, J. M. A.; LABRUNA, M. B.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Tristeza parasitária bovina no sertão da Paraíba. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 31, n. 3, p. 239-243, 2011.

COSTA, V.M.M.; RIBEIRO, M.F.B.; DUARTE, G.A.F.P.; SOARES, J.F.; AZEVEDO, S.S.; BARROS, A.T.M.; RIET-CORREA, F.; LABRUNA, M.B. Incidência de *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bezerros no semiárido paraibano. **Pesq. Vet. Bras.** 38(4):605-612, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4786>>.

CUNHA, L. L.; MARTINS, N. S.; LIGNON, J. S.; WILLRICH, B. R.; ANTUNES, T. A.; PAPPEN, F. G. Prevalência de hemoparasitos em bezerras de propriedades leiteiras da região sul do RS, Brasil. In: **Anais...** 9º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, Universidade Federal do Pampa, 2017.

DANTAS, I. M. **Babesiose cerebral em bezerra transmitida por via transplacentária**. 20f. TCR (Residência) – Universidade Federal da Paraíba, Programa de Residência em Área Profissional de Saúde em Clínica e Cirurgia Animal, Areia, 2018.

GUAMÁN-QUINCHE, F.S.; SARANGO-GUAMÁN, D.E.; GUERRERO-PINCAY, Á.E. Prevalencia de hemoparásitos en bovino de carne en la Comunidad Cocha del Betano, Ecuador. **Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 131-143, oct. 2020. Disponível em: <<https://fundacionkoinonia.com.ve/ojs/index.php/revistakoinonia/article/view/987>>. Fecha de acceso: 19 jul. 2022.

GUERRA, N.R.; MONTEIRO, M.F.M.; SANDES, H.M.M.; CRUZ, N.L.N. da; RAMOS, C.A.N; SANTANA, V.L. de A.; De SOUZA, M.M.A.; ALVES, L.C. Detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos através do teste de Imunofluorescência indireta. **Pesq. Vet. Bras.** [online], v. 33, n. 12, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013001200005>>.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal** (2020). Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 14 nov. 2021.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, Cap. 2. 470p.

JUNIOR, P.I.; DEMONER, L.C.; AVELAR, B.R.; NUNES, L.C.; DONATELE, D.M.; MARTINS, I.V. Estudo parasitológico em bovinos leiteiros da microrregião do Caparaó, Espírito Santo, Brasil. **Ciências Veterinárias**, v.103, p.151-156, 2008.

KESSLER, R. H. Considerações sobre a transmissão de *Anaplasma marginale*. **Pesq. Vet. Bras**, v. 21, n. 4, p. 177-179, 2001.

KIKUGAWA, M. M. **Tristeza parasitária bovina (babesiose x anaplasmoses)**. 41 f. TCC (Graduação) – Faculdade Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2009.

KOCAN, K.M., DE LA FUENTE, J., BLOUIN, E.F., COETZEE, J.F., EWING, S.A. The natural history of *Anaplasma marginale*. **Veterinary Parasitology**, v. 167, p. 95-107, 2010.

LOPES, S. T. P.; PRADO B. S.; MARTINS, G. H. C.; BESERRA, H E. A.; SOUSA FILHO, M. A. C; EVANGELISTA; L. S. M., CARDOSO, J. F.S.; MINEIRO, A. L. B. B.; SOUZA, J. A. *Trypanosoma vivax* em bovino leiteiro. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.46, Suppl. 1.p. 1-5, 2018.

LOPES, T. V. et al. Ocorrência de *Babesia* spp. em amostras hematológicas em vacas Nelore e a importância de sua profilaxia na Cidade de Porto Velho – Rondônia. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, e04101018085, 2021.

MADRUGA, C.R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanosoma (Duttonella) vivax* no Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 13, Suppl. 1, p. 46-47, 2004.

MAHONEY D.F. & ROSS D.R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. **Aust. Vet. J.** v.48, n.5, p.292-298, 1972. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1972.tb05160.x>. PMID:4672119.> Acesso em: 19 jul. 2022.

MALAFAIA, G. C.; AZEVEDO, D. B.; PEREIRA, M. A.; MATIAS, M. J. A. **A sustentabilidade na cadeia produtiva da pecuária de corte brasileira. Embrapa Gado de Corte** - Capítulo em livro científico (ALICE), 2019. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1112915>. Acesso em: 12 jul. 2022.

PAULA, M. A. M.; OLIVEIRA, F. C. R.; MELO JR., O. A.; FRAZÃO-TEIXEIRA, E. Prevalência de *Babesia* spp. e *Anaplasma marginale* em bovinos no município de Palma, MG. **Rev. Bras. Med. Vet.**, 37(4):359-365, 2015.

PEREIRA, H.D.; SIMÕES, S.V.; SOUZA, F.A.L.; SILVEIRA, J.A.G.; RIBEIRO, M.F.B.; CADIOLI, F.A.; SAMPAIO, P.H. Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico da infecção por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino no estado do Maranhão. **Pesq. Vet. Bras.** [online], v. 38, n. 05, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5303>>.

PIAU JÚNIOR, R.; MEZALIRA, T. S.; ROMITE, B.; SANTOS, M. L. H.; GONÇALVES, D. D.; ALBERTON, L. R. Levantamento da prevalência da babesiose bovina no município de Umuarama, Paraná, Brasil. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, v. 16, n. 1, p. 25-29, 2013.

R CORE TEAM (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SACCO A.M.S. 2002. Profilaxia da Tristeza Parasitária Bovina: por quê, quando e como fazer. Circ. Téc. 28, Embrapa Pecuária Sul, Bagé.12p.

SANTOS, G. B. **Estudo epidemiológico da tristeza parasitária bovina em rebanhos dos municípios de Petrolina e Ouricuri, estado de Pernambuco**. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2013.

SANTOS, G.B.; GOMES, I.M.M.; SILVEIRA, J.A.G.; PIRES, L.C.S.R.; AZEVEDO, S.S.; ANTONELLI, A.C.; RIBEIRO, M.F.B.; HORTA, M.C. Tristeza Parasitária Em Bovinos Do Semiárido Pernambucano. **Pesq. Vet. Bras.** 37(1):1-7, 2017. DOI: 10.1590/S0100-736X2017000100001.

SCHABENBERGER, O.; PIERCE, F. J. Modelos Estatísticos Contemporâneos para as Ciências Vegetais e do Solo. 1ª Ed. Boca Raton: **CRC Press**, 2001.750p. doi:<https://doi.org/10.1201/9781420040197>.

SILVA, T. F. et al. Tristeza parasitária bovina: revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, e15410111631, 2021.

STOTZER E. S.; LOPES, L. B.; ECKSTEIN, C.; MORAES, M. C. M. M.; RODRIGUES, D. S.; BASTIANETTO, E. Impacto econômico das doenças parasitárias na pecuária. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** (v.8, n.3) p. 198 –221, jul - set (2014) 198. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20140128>. Acesso em: 14 jul. 2022.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

THRUSFIELD, M. V. **Epidemiologia Veterinária** . 2. ed. São Paulo: Roca, 2004. 556p.

TRINDADE, H. I.; ALMEIDA, K. S.; FREITAS, F. L. C. Tristeza parasitária bovina: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 16, 2011.

WOO, P.T.K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomosis. **Acta Tropica**, 27, 384-386, 1970.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As hemoparasitoses são enfermidades de grande importância para a bovinocultura brasileira visto que podem causar graves prejuízos no que diz respeito a sanidade animal, a pecuária e a lucratividade. Por gerarem sinais clínicos e sintomas bastante semelhantes aos causados por outras enfermidades acabam por ter seu tratamento e prevenção dificultados, visto que muitas vezes os produtores acabam confundidos essas doenças com outras enfermidades e as propriedades muitas vezes não possuíam assistência veterinária.

Estudar a situação epidemiológica de uma doença em uma região é algo de extrema importância, visto que conhecendo tal situação é possível criar estratégias mais específicas para a melhoria da situação sanitária local, possibilitando assim o estabelecimento de programas de conscientização dos produtores sobre as hemoparasitoses e seus prejuízos quanto a produtividade e saúde animal.

O estudo em questão mostrou a existência da presença de *Tripanossoma vivax* na microrregião do brejo paraibano, localidade onde ainda não haviam sido relatados focos da doença e que há uma alta prevalência de *Babesia* spp. e *Anaplasma marginale* nesta mesma região, o que pode representar riscos relacionados a higidez do rebanho e conseqüentemente perdas econômicas de grandes impactos para o produtores, visto que estas enfermidades afetam diretamente atividade pecuária.

No presente estudo pode-se notar uma diferença significativa entre as diferentes técnicas de diagnóstico utilizadas, onde foi possível perceber que o diagnóstico de tripanossomíase bovina por meio da reação em cadeia de polimerase (PCR) foi mais sensível quando comparado a pesquisa direta por leitura do esfregaço de sangue periférico, o que ressalta a importância da associação de mais de uma técnica de diagnóstico para identificação de hemoparasitoses como a Tripanossomíase bovina.

Os dados obtidos através destes estudos evidenciam a necessidade da realização de mais pesquisas deste tipo e podem servir como base para adoção de medidas de controle e prevenção destas doenças.

REFERÊNCIAS CONSIDERAÇÕES INICIAIS

ANDRADE, A. Q.; MENDONÇA, C.; SOUTO, R.; SAMPAIO, P.; FIDELIS JUNIOR, O.; ANDRÉ, M. R. et al. Diagnostic, Clinical and Epidemiological aspects of dairy cows naturally infected by *Trypanosoma vivax* in the states of Pernambuco and Alagoas, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 41, 2019.

BATISTA, J.S.; BEZERRA, F.S.B.; LIRA, R.A.; CARVALHO, J.R.G.; ROSADO NETO, A.M.; PETRI, A.A.; TEIXEIRA, M.G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.1, p. 63-69, jan. 2008. Disponível em < <https://www.scielo.br/j/pvb/a/DWV7cnXG7rHhqnGrQffdwy/?lang=pt> > Acesso em: 10 de jun de 2020.

BUNGENSTAB, D. J. (Ed.). Sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta : a produção sustentável. 2. ed. Brasília, DF: **Embrapa**, 2012.

CASTELLI, G. S. N.; SILVA, R. E.; COSTA, A. P.; MARCILI, A. *Trypanosoma vivax*: uma breve revisão. **Brazilian Journal of Development, Curitiba**, v.7, n.11, p.109155-109171 nov. 2021

CUNHA, L. L.; MARTINS, N. S.; LIGNON, J. S.; WILLRICH, B. R.; ANTUNES, T. A.; PAPPEN, F. G. Prevalência de hemoparasitos em bezerras de propriedades leiteiras da região sul do RS, Brasil. In: **Anais...** 9º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, Universidade Federal do Pampa, 2017. Disponível em < https://guri.unipampa.edu.br/uploads/evt/arg_trabalhos/14232/seer_14232.pdf > Acesso em: 20 jul. 2022.

GERMANO, P. H. V.; SILVA, A. A.; EDLER, G. E. C.; LOPES, M. C.; TALITA CRISTINA MODESTO, T. C.; REIS, J. A. Tripanossomose bovina: revisão. **Pub Vet**. v.12, n.8, a144, p.1-6, Ago., 2018. Disponível em < <http://www.pubvet.com.br/artigo/4962/tripanossomose-bovina-revisatildeo> > Acesso em 12 de jul. 2022.

GIORDANI, F.; MORRINSON, L. J.; ROWAN, T. G.; KONING, H. P.; BARRETT, M. P.. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. **Parasitology**, v.143, p.1862-1889, 2016

KESSLER R.H. Considerações sobre a transmissão de *Anaplasma marginale*. **Pesq. Vet. Bras.** v.21, n4, p.177-179, 2001. Disponível em < <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2001000400009> > Acesso em: 20 jul. 2022.

KIKUGAWA, M. M. Tristeza parasitária bovina (babesiose x anaplasmoses). 41 f. TCC (Graduação) – **Faculdade Metropolitanas Unidas**, São Paulo, 2009. Disponível em < <https://arquivo.fmu.br/prodisc/medvet/mmk.pdf> > Acesso em: 19 jul. 2022.

LUCENA, R. B. Doenças de bovinos no sul do Brasil: 6.706 casos. 71f. Dissertação (mestrado)- Centro de Ciências Rurais, **Universidade Federal de Santa Maria**. Santa Maria –RS. 2009

PEREIRA, D. A. A. Avaliação e otimização de reações da polimerase em cadeia para diagnóstico molecular e estudo epidemiológico de Babesia bovis. 2006. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária. **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**, Campo Grande. Disponível em< <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/13787>> Acesso em: 20 jul. 2022.

PIAU JÚNIOR, R.; MEZALIRA, T. S.; ROMITE, B.; SANTOS, M. L. H.; GONÇALVES, D. D.; ALBERTON, L. R. Levantamento da prevalência da babesiose bovina no município de Umuarama, Paraná, Brasil. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, v. 16, n. 1, p. 25-29, 2013.

RIET-CORREA, F.; SHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. Doenças de Ruminantes e Equídeos. 3.ed. Santa Maria: Pallotti, 2007, v.1, p.524-532.

SANTOS, G. B. Estudo epidemiológico da tristeza parasitária bovina em rebanhos dos municípios de Petrolina e Ouricuri, estado de Pernambuco. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – **Universidade Federal do Vale do São Francisco**, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2013.

SILVA, T. F. et al. Tristeza parasitária bovina: revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, e15410111631, 2021. Disponível em <<https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11631>> Acesso em 19 jul. 2022.]

TEIXEIRA, J. C.; HESPANHOL, A. N. A trajetória da pecuária bovina brasileira. **Caderno Prudentino de Geografia**, Presidente Prudente, n.36, v.1, p.26-38, jan./jul. 2014.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Eu, _____,

abaixo assinado, **declaro** que fui devidamente esclarecido(a) sobre todos os procedimentos deste estudo conforme especificado no texto abaixo. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do(s) meu(s) animal(is) identificado(s), a seguir, neste projeto da Universidade Federal da Paraíba, por intermédio do discente **DAYANA INOCÊNCIO DA COSTA** aluna do Curso de Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Prof. Dr. **Inácio José Clementino**.

Título do Experimento: “ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA TRIPANOSSOMÍASE BOVINA NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAÍBANO”.

- 1- **Objetivo:** Realizar levantamento epidemiológico da tripanossomíase bovina na microrregião do Brejo Paraibano.
- 2- **Descrição de procedimentos:** Será feita uma visita ao estabelecimento para preenchimento de questionário e coleta de amostras de sangue dos animais (punção venosa – 5 a 10 ml).
- 3- **Desconfortos e riscos esperados:** Os procedimentos a serem adotados apresentam desconforto e risco mínimos, resumindo-se em contenção dos animais realizados junto com o produtor, e colheita de material conforme procedimentos rotineiros utilizados na rotina ambulatorial.
- 4- **Benefícios esperados:** A finalidade deste trabalho é contribuir para o conhecimento situação epidemiológica da tripanossomíase bovina na microrregião do Brejo Paraibano.
- 5- **Esclarecimento sobre a participação do animal neste projeto:** Sua autorização para inclusão dos seus animais na pesquisa é voluntária e o Sr.(a) tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, não acarretando nenhum dano ou prejuízo ao estudo e ao voluntário.

A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada. Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações, e nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares.

O Médico Veterinário responsável pelo(s) seu(s) animal(is) será a Dr Inácio J. Clementino, inscrito(a) no CRMV sob o nº 0783. Além dele, a Médica Veterinária **DAYANA INOCÊNCIO DA COSTA** também se responsabilizará pelo bem-estar dos seus animais durante todo o estudo e ao final dele. Em casos de dúvidas quanto aos seus direitos, ligue para o Comitê de Ética em Pesquisa CEP – Universidade Federal da Paraíba (83 – 3216 7791) ou para o Pesquisador responsável pelo projeto, Prof. Dr. Inácio José Clementino (83) 99902-6422.

Local e data. _____, _____ de _____ de _____

Assinatura do Responsável

Nome e Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B – Check List

Tripanosomose bovina Estudo Epidemiológico																																					
01-Identificação: Município: _____ Proprietário: _____ Propriedade: _____ Código: _____ Área: _____ hectares; Telefone do criador: () _____						02 – Data das visitas: Data da visita: ____/____/____ Data do retorno: ____/____/____ 03 – Coordenadas Lat ____° ____' ____" N Lon ____° ____' ____" W																															
04- Tipo da Exploração: ☐ corte ☐ leite ☐ mista 05- Sistema de Criação: ☐ confinado ☐ semi-confinado ☐ extensivo 06- N° de Ordenhas por dia: ☐ 1 ordenha ☐ 2 ou 3 ordenhas ☐ Não ordenha 07- Tipo de Ordenha: ☐ manual ☐ mecânica ao pé ☐ mecânica em sala de ordenha ☐ Não ordenha 08- Produção de leite: a) N° de vacas em lactação: _____ b) Produção diária de leite na fazenda: _____ litros 9- Usa inseminação artificial? ☐ não ☐ usa inseminação artificial e touro ☐ usa só inseminação artificial 10- Raça predominante - Bovinos: ☐ zebu ☐ europeu de leite ☐ europeu de corte ☐ mestiço ☐ outras raças																																					
11- Bovinos existentes								12- Outras espécies na propriedade: ☐ ovinos/caprinos ☐ eqüídeos ☐ suínos ☐ aves ☐ cão ☐ gato																													
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Total</th> <th colspan="4">Machos inteiros (meses)</th> <th colspan="4">Fêmeas (meses)</th> </tr> <tr> <th>0-6</th> <th>6-12</th> <th>12-24</th> <th>> 24</th> <th>0-6</th> <th>6-12</th> <th>12-24</th> <th>> 24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="height: 20px;"></td> <td></td><td></td><td></td><td></td> <td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </tbody> </table>								Total	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)				0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24	> 24										13- Espécies silvestres em vida livre na propriedade: ☐ não ☐ sim, quais: _____			
Total	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)																																
	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24	> 24																													
14- Alguma vaca abortou nos últimos 12 meses? ☐ não ☐ sim ☐ não sabe 15- O que faz com o feto abortado e a placenta? ☐ enterra/joga em fossa/queima ☐ alimenta porco/cão ☐ não faz nada 16- Aluga pastos em alguma época do ano? ☐ não ☐ sim 17- Compartilha outros itens com outras propriedades? ☐ não ☐ equipamentos (pistola de vacinação) ☐ outros _____ 18- Tem pastos em comum com outras propriedades? ☐ não ☐ sim 19- Existem na propriedade áreas alagadiças às quais o gado tem acesso? ☐ não ☐ sim 20- Nos últimos 12 meses houve aquisição de bovinos ou búfalos? ☐ não ☐ sim Onde/de quem: ☐ em exposição ☐ em leilão/feira ☐ de comerciante de gado ☐ diretamente de outras fazendas 21- Vende animais para abate? ☐ não ☐ sim 22- Tem assistência veterinária? ☐ não ☐ sim De que tipo? ☐ vet cooperativa/extensão ☐ veterinário particular 23- Nos últimos 12 meses comprou bovinos/bubalinos: número de animais: _____, de quantas propriedades: _____ 24- Nos últimos 12 meses vendeu bovinos/bubalinos: número de animais: _____, para quantas propriedades: _____ 25- Compartilha aguadas/bebedouros com animais de outra(s) propriedade(s)? ☐ não ☐ sim 26- Usa a mesma seringa / agulha para aplicar medicamento ou vacina em vários animais? ☐ não ☐ sim ☐ não sabe 27- Classificação da propriedade? ☐ rural clássica ☐ aldeia indígena ☐ assentamento ☐ periferia urbana																																					
Assinatura do pesquisador: _____																																					
28- INFORMAÇÕES SOBRE AS AMOSTRAS COLHIDAS										29- Sinais		30- RESULTADOS LABORATORIAIS																									
Nº	Nº do frasco Cód. do rebanho + N° sequencial	Idade (anos)	Sexo (M / F)	Já abortou		Vacinas (1)				clínicos (2)	Pesquisa direta (-) / (+)	RIFI (-) / (+)	Obs.:																								
						BRU	LEP	IBR	BVD																												
1																																					
2																																					
3																																					
4																																					
5																																					
6																																					
7																																					
8																																					
9																																					
10																																					

Códigos e instruções para preenchimento desta tabela

(1) Marcar com X nas vacinas utilizadas (BRU = Brucelose; LEP = leptospirose; IBR = rinotraqueíte infecciosa bovina; BVD = Diarréia viral dos bovinos)

(2) Sintomatologia clínica dentro do espectro de sinais clínicos da doença. Detalhar no verso caso apresente sinais clínicos.

ANEXO A – Certificado de aprovação CEUA/UFPB



Universidade
Federal da
Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais

Reitoria



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA TRIPANOSSOMÍASE BOVINA NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO", protocolada sob o CEUA nº 2113050520 (ID 001079), sob a responsabilidade de **Inacio Jose Clementino e equipe; Dayana Inocência da Costa** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 22/05/2020.

We certify that the proposal "EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF BOVINE TRYPANOSOMIASIS IN THE MICRO-REGION OF THE PARAIBANO BREJO", utilizing 400 Bovines (males and females), protocol number CEUA 2113050520 (ID 001079), under the responsibility of **Inacio Jose Clementino and team; Dayana Inocência da Costa** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 05/22/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2020** a **08/2022**

Área: **Ciências Veterinárias**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **0 a 15 anos**

N: **400**

Linhagem: **não se aplica**

Peso: **50 a 600 kg**

Local do experimento: A pesquisa será realizada em propriedades rurais criadoras de bovinos situadas na microrregião do Brejo Paraibano, Estado da Paraíba, composta pelos municípios de Alagoa Grande, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria. As amostras colhidas serão processadas e analisadas no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva (LMVP) do Hospital Veterinário (HV) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), localizado no município de Areia - PB. O trabalho se ocorrerá no período de agosto de 2020 a agosto de 2022.

João Pessoa, 29 de janeiro de 2021

Prof.ª. Dra. Jailane de Souza Aquino
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Carlos Augusto Alanis Clemente
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba