

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE**

**OCORRÊNCIA DE *Anaplasma* spp. E *Babesia* spp.  
EM BOVINOS LEITEIROS DE GUARAPUAVA – PR E  
REGIÃO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**TATIANA BISCHOF CHICALSKI**

**GUARAPUAVA**

**2023**

**TATIANA BISCHOF CHICALSKI**

**OCORRÊNCIA DE *Anaplasma* spp. E *Babesia* spp.  
EM BOVINOS LEITEIROS DE GUARAPUAVA – PR E  
REGIÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual  
do Centro-Oeste, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margarete Kimie Falbo

Orientadora

Profa. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Pinto Ferreira

Co-orientadora

**GUARAPUAVA – PR**

**2023**

Catálogo na Publicação

Rede de Bibliotecas da Unicentro

Chicalski, Tatiana Bischof

C533o Ocorrência de *Anaplasma spp* E *Babesia spp.* em bovinos leiteiros de Guarapuava - PR e região / Tatiana Bischof Chicalski. -- Guarapuava, 2023.  
xi, 40 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Área de Concentração: Saúde e Produção Animal Sustentável, 2023.

Orientadora: Margarete Kimie Falbo

Coorientadora: Fernanda Pinto Ferreira

Banca examinadora: Heloísa Godoi Bertagnon, Richard de Campos Pacheco

Bibliografia

1. Bovinocultura leiteira. 2. Carrapatos. 3. Hemoparasitas. 4. Tristeza Parasitária Bovina. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

CDD 636


## **TATIANA BISCHOF CHICALSKI**

### OCORRÊNCIA DE *Anaplasma* spp. E *Babesia* spp. EM BOVINOS LEITEIROS DE GUARAPUAVA-PR E REGIÃO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 20 de abril de 2023.


Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Margarete Kimie Falbo – UNICENTRO

Documento assinado digitalmente  
 MARGARETE KIMIE FALBO  
Data: 20/04/2023 15:53:11-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Presidente


Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Heloísa Godoi Bertagnon – UNICENTRO

Documento assinado digitalmente  
 HELOISA GODOI BERTAGNON  
Data: 25/04/2023 08:05:29-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro

Prof. Dr. Richard de Campos Pacheco – UFMT

Documento assinado digitalmente  
 RICHARD DE CAMPOS PACHECO  
Data: 20/04/2023 16:13:44-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro Externo

GUARAPUAVA-PR  
2023

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 027/2021 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 05/07/2021

Senhora Pesquisadora,

1. Comunicamos que seu projeto de pesquisa intitulado: "Ocorrência de *Anaplasma platys* e *Anaplasma phagocytophilum* em bovinos leiteiros na região de Guarapuava-Paraná", protocolo número 014/2021, com início em 20/09/2021 e término em 31/12/2022, foi analisado e considerado **APROVADO**, pela Comissão de Ética no Uso de Animais de nossa Instituição em Reunião Ordinária do dia 02/07/2021.

2. Deverá ser encaminhado à CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.

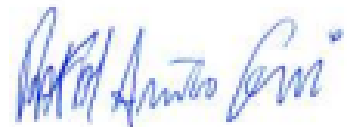
3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:

- Os **Relatórios Parciais** deverão ser encaminhados à CEUA assim que tenha **transcorrido um ano da pesquisa**.

- Os **Relatórios Finais** deverão ser encaminhados à CEUA em até **30 dias após a conclusão da pesquisa**.

- **Qualquer alteração na pesquisa** que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise da CEUA.

Pesquisador (a): Margarete Kimie Falbo  
Atenciosamente,



Rafael Augusto Gregati  
Vice-Presidente da Ceua/Unicentro  
PORTARIA Nº 359-GR/Unicentro-2021

À Senhora: Margarete Kimie Falbo  
UNICENTRO-CEDETEG

Dedico este trabalho à minha família, sempre presente em minhas conquistas.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que em sua infinita sabedoria permitiu que fosse possível conciliar tantas atividades e que permitiu com que eu percebesse que era possível realizar este trabalho.

Aos meu marido, pela paciência e auxílio de sempre.

Aos meus filhos, pela compreensão.

À minha orientadora, Margarete Kimie Falbo, por todo conhecimento repassado, pela dedicação e prontidão em ajudar.

À minha co-orientadora, Fernanda Pinto Ferreira, pela atenção e pelos ensinamentos.

À mestranda Letícia Balbino, do laboratório de Protozoologia da Universidade Estadual de Londrina, pela ajuda indispensável.

Aos estagiários e residentes do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária/UNICENTRO, Djulia Weber, Marcela Branquinho, Letícia Savoldi, Marina Szychta, pela grande ajuda prestada.

À Médica Veterinária Kamila Líbano de Souza, pela disponibilidade e tempo dedicados.

Ao professor Paulo Roberto da Silva, pela possibilidade da utilização do Laboratório de Biologia Molecular.

Ao laboratorista Felipe Liss e à mestranda Pamela Bini pelos ensinamentos e auxílio prestados.

Aos produtores rurais, que concordaram em participar da pesquisa prontamente.

A meus alunos do Centro Estadual de Educação Profissional, pelo interesse em ajudar na pesquisa.

E a todas as pessoas que de alguma forma tenham contribuído para a realização do trabalho.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo da anaplasmosose em bovinos, desde a infecção do carrapato à contaminação dos eritrócitos.....	15
Figura 2 - Ciclo biológico da <i>Babesia</i> spp., com as fases de desenvolvimento do parasita no carrapato e no hospedeiro.....	17
Figura 3 – Localização de Guarapuava e municípios vizinhos referentes à pesquisa de <i>Anaplasma platys</i> e <i>Babesia</i> spp. nos anos de 2021/2022.....	19
Figura 4 - Eletroforese em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídeo demonstrando a leitura de DNA genômico de 15 amostras de bovinos leiteiros para detecção de <i>Babesia</i> spp. 24	
Figura 5 - Eletroforese em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídeo, demonstrando a leitura de DNA genômico de 7 amostras de bovinos leiteiros para detecção de <i>A. platys</i> .....	25
Figura 6 - Distribuição das 76 propriedades leiteiras de acordo com a produtividade de leite do rebanho (Litros de leite produzidos/dia) .....	26
Figura 7 - Grau de incidência de carrapatos em bovinos leiteiros nas 76 propriedades leiteiras, conforme visualização pelo produtor durante manejo diário dos animais.....	27
Figura 8 - Observação de bovinos leiteiros com sintomas de TPB nas propriedades averiguadas durante o manejo diário.....	28
Figura 9 - Relação da idade dos bovinos com PCR positivos para <i>Babesia</i> spp. e <i>Anaplasma platys</i> em total de 509 amostras avaliadas.....	29
Figura 10 - Porcentagem de propriedades leiteiras onde foi detectada presença de <i>A.platys</i> e/ou <i>Babesia</i> spp. em bovinos e a observação de sintomatologia de TPB pelos produtores.....	31



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Levantamento do rebanho leiteiro do município de Guarapuava e demais cidades da região no ano de 2019.....	20
Tabela 2 - Valores médios do eritrograma de 244 vacas leiteiras na pesquisa de <i>Anaplasma platys</i> e <i>Babesia</i> spp em municípios de Guarapuava e região.....	24
Tabela 3 - Percentual dos sistemas de criação adotados nas 76 propriedades de bovinos de leite pesquisadas, segundo o relatado no questionário.....	25
Tabela 4 - Características quanto à incidência e nível de infestação de carrapatos, uso de carrapaticidas e observação de sintomas da TPB, levando em consideração o relatado em questionário.....	27
Tabela 5 – Relação de municípios e número de amostras de sangue bovino positivos para <i>A.platys</i> e <i>Babesia</i> spp. de propriedades leiteiras de Guarapuava e região.....	29
Tabela 6 - Características de manejos adotados pelas propriedades leiteiras com bovinos leiteiros detectados com <i>A.platys</i> e/ou <i>Babesia</i> spp.....	30

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

H<sub>2</sub>O Água

® Marca Registrada

Pb Pares de bases

% Porcentagem

°C Graus Celsius

µm Micrômetro

km<sup>2</sup> Kilômetros quadrados

spp. Subespécie ou espécies

TPB Tristeza Parasitária Bovina

PCR Reação em cadeia da polimerase

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência dos parasitas sanguíneos *Anaplasma platys* e *Babesia* spp., pelo método da reação em cadeia da polimerase (PCR) em Guarapuava/PR e região. Foram selecionadas 76 propriedades de bovinocultura leiteira localizadas nos municípios de Guarapuava, Prudentópolis, Turvo, Pinhão, Reserva do Iguaçu, Foz do Jordão, Cândói, Cantagalo, Campina do Simão, Boaventura de São Roque, Marquinho e Goioxim, pertencentes à região Centro-Sul paranaense. Foram coletadas 509 amostras de sangue para realização da PCR, e em 244 amostras, foram realizados eritrogramas e plaquetogramas e aplicados 76 questionários epidemiológicos respondidos pelos produtores rurais. A PCR detectou 109 bovinos positivos para *Babesia* spp. (21,41%), 11 positivos para *Anaplasma platys* (2,16%) e 3 animais com coinfeção para *Babesia* spp. e *A. platys* (0,58%). Os resultados dos eritrogramas demonstraram a ocorrência de anemia em 8,6% (21/244), destes 18 animais eram positivos para *Babesia* spp. e 3 positivos para *A. platys*, os animais que apresentaram coinfeção não apresentaram anemia. Os questionários apontaram que 47% (37/76) das propriedades pesquisadas são de pecuária leiteira semi-intensiva (36/76) e 49% (37/76) produziam até 50 L de leite ao dia; 57,89% (44/76) relataram ter ocorrência do complexo tristeza parasitária bovina e 81,59% (61/76) descreveram presença de carrapatos nos animais leiteiros. Este trabalho relata pela primeira vez a ocorrência de *A. platys* em rebanho leiteiro no Brasil bem como a coinfeção de *A. platys* e *Babesia* spp.

**Palavras-chave:** Bovinocultura leiteira, carrapatos, hemoparasitas, Tristeza Parasitária Bovina.

## ABSTRACT

This study aimed to verify the occurrence of blood parasites *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. by the polymerase chain reaction (PCR) method in Guarapuava/PR and region. Were selected 76 dairy cattle farms located in the municipalities of Guarapuava, Prudentópolis, Turvo, Pinhão, Reserva do Iguçu, Foz do Jordão, Cândói, Cantagalo, Campina do Simão, Boaventura de São Roque, Marquinho and Goioxim, which belong to the south-central region of Paraná. A total of 509 blood samples were collected for PCR, and in 244 samples, erythrograms and plateletograms were performed, and 76 epidemiological questionnaires were answered by the farmers. The PCR detected 109 cattle positive for *Babesia* spp. (21.41%), 11 positives for *Anaplasma platys* (2.16%) and 3 animals with coinfection for *Babesia* spp. and *A. platys* (0.58%). The results of the erythrograms showed anemia in 8.6% (21/244), 18 animals were positive for *Babesia* spp. and 3 positives for *A. platys*, and the animals that presented coinfection did not present anemia. The questionnaires pointed out that 47% of the surveyed properties were semi-intensive dairy farms (36/76) and 49% produced up to 50 L of milk per day (37/76); 57.89% reported the occurrence of cattle tick fever, and 81.59% (61/76) described the presence of ticks in dairy animals. This study reports for the first time the occurrence of *A. platys* in dairy herds in Brazil, as well as the coinfection of *A. platys* and *Babesia* spp.

**Key-words:** dairy cattle, ticks, hemoparasites, cattle tick fever.

## SUMÁRIO

<b>Sumário</b> .....	xii
1 – INTRODUÇÃO .....	13
2 – REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
2.1. Doenças do Complexo Tristeza Parasitária Bovina (TPB) .....	14
2.2. Agentes etiológicos .....	15
2.2.1. <i>Anaplasma</i> spp. ....	15
2.2.1.1. <i>Anaplasma platys</i> .....	16
2.2.2. <i>Babesia</i> spp. ....	17
3 – OBJETIVOS .....	18
3.1 Objetivo Geral .....	18
3.2 Objetivos Específicos .....	18
4 – MATERIAL E MÉTODOS .....	19
4.1. Local e delineamento experimental .....	19
4.2. Colheita de sangue .....	21
4.3. Eritrograma e Plaquetograma .....	22
4.4. Extração de DNA .....	22
4.5. Reação em Cadeia pela Polimerase - PCR .....	22
4.5.1. <i>A. platys</i> .....	23
4.5.2. <i>Babesia</i> spp. ....	23
4.5.3. Detecção e visualização da amplificação .....	23
4.6 Questionários .....	24
5 – RESULTADOS .....	24
5.1. Eritrograma e Plaquetograma .....	24
5.2. PCR .....	25
5.3. Questionários .....	26
6 – DISCUSSÃO .....	31
7 – CONCLUSÕES .....	35
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36
ANEXO .....	41

## OCORRÊNCIA DE *Anaplasma platys* E *Babesia* spp. EM BOVINOS LEITEIROS DE GUARAPUAVA – PR E REGIÃO

### 1 – INTRODUÇÃO

A atividade pecuária no Brasil é uma das maiores geradoras de fonte de renda para o país. Dentre as principais atividades está a produção leiteira, que além da grande geração de empregos, tem relevante importância social, principalmente na agricultura familiar, que, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021), correspondem a mais de 35,62 bilhões de litros produzidos. O Estado do Paraná ocupa a segunda posição no ranking nacional, e a região de Guarapuava/PR, integra a produção leiteira, prioritariamente com rebanhos em pequenas propriedades, totalizando aproximadamente 50000 bovinos de leite (ADAPAR, 2019).

Na produção leiteira, vários aspectos são relevantes, sendo o manejo sanitário um dos requisitos de maior importância nas implicações de bem-estar animal e no sucesso da propriedade. A incidência de parasitas nos bovinos de leite acarreta grandes prejuízos em decorrência do estresse causado pela sua presença e pela transmissão de agentes infecciosos (KEMER, 2020).

Particularmente, os parasitismos transmitidos por *Rhipicephallus* (*Boophilus*) *microplus*, principal carrapato que afeta os bovinos, podem ocasionar grandes prejuízos econômicos e atuar como vetores de algumas doenças. No Brasil, as perdas relacionadas ao carrapato podem ser estimadas em cerca de um bilhão de dólares/ano, representadas por danos causados pela ação direta do parasita e pela transmissão de doenças que resultam em perdas produtivas e gastos bastante expressivos devido ao alto custo dos tratamentos (DELLA PASQUA; FREITAS, 2020).

No Brasil, os estudos para avaliar a prevalência da anaplasmose bovina em diferentes regiões constataram que a infecção está disseminada pelo país (MARANA *et al.*, 2009).

Enfermidades como o complexo tristeza parasitária bovina, transmitido principalmente pelo carrapato bovino, e causado pela bactéria *Anaplasma* spp. e pelos protozoários do gênero *Babesia* spp. acarretam graves problemas sanitários ao rebanho leiteiro, causando sinais clínicos como febre, perda de peso, decréscimo na produção leiteira, anemia hemolítica,

icterícia, aborto e óbito (ANDRÉ *et al.*, 2020). Os agentes infecciosos mais comumente encontrados são *Anaplasma marginale* e *Babesia bovis*. Até o presente momento, poucos trabalhos descreveram a ocorrência de *A. platys* em bovinos de leite no país, e mesmo com a incidência comum de *Babesia* spp., poucos registros acadêmicos se fizeram na região investigada. Além disso, relatos de produtores descrevem uma maior ocorrência do complexo TPB nas propriedades da região e uma maior dificuldade de recuperação dos animais pós-tratamento.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência de *Anaplasma platys* e *Babesia* spp. em propriedades leiteiras da região centro-sul do Paraná.

## 2 – REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Doenças do Complexo Tristeza Parasitária Bovina (TPB)

O complexo TPB é caracterizado por doenças parasitárias causadas por múltiplos agentes etiológicos (SILVA *et al.*, 2018). Nos bovinos, o carrapato *R. microplus* é conhecido como o principal vetor do complexo TPB, somando-se também a possibilidade de transmissão por moscas hematófagas das famílias Tabanidae e Muscidae (GUASTALI, 2021).

O diagnóstico precoce dos agentes etiológicos é uma das formas de se evitar a contaminação de animais saudáveis, garantindo maior êxito no tratamento da parte do rebanho que não estiver contaminado (COSTA *et al.*, 2021). Por ser facilmente confundidas com outras doenças, as patogenias e os sinais clínicos dos três agentes etiológicos que compõem o complexo TPB requerem diagnóstico cauteloso.

Assim, embora possam ser realizados exames clínicos, faz-se necessária, para comprovar o diagnóstico clínico, a realização de exames laboratoriais, os quais irão detectar com precisão o tipo de agente e o melhor tratamento a ser aplicado à situação (ALMEIDA *et al.*, 2019).

O diagnóstico da babesiose e anaplasmoze bovina pode ser realizado por técnicas de biologia molecular como a Reação em cadeia da polimerase (PCR), testes sorológicos como o Imunofluorescência Indireta e Imunoensaio Enzimático (ALMEIDA *et al.*, 2019). Estes são métodos de alto custo, sendo muitas vezes inviáveis para a realização em pequenas propriedades rurais. Dessa forma, métodos diretos como a observação dos protozoários em esfregaço sanguíneo, capa leucoplaquetária e esfregaço de ponta de orelha, seriam técnicas de suma

importância, pois além de apresentarem baixo custo, podem ser realizados pelo veterinário a campo, otimizando o diagnóstico de hemoparasitoses em bovinos (STOBBE *et al.*, 1988).

## 2.2. Agentes etiológicos

*Anaplasma* spp. e *Babesia* spp. são parasitas intraeritrocitários obrigatórios, apresentando sinais clínicos semelhantes, sendo possível mais de um agente acometer o mesmo animal simultaneamente. (SILVA *et al.*, 2021).

### 2.2.1. *Anaplasma* spp.

Anaplasmas são Rickettsias, Família *Anaplasmataceae*, bactérias gram-negativas que obrigatoriamente parasitam eritrócitos, causando danos à saúde dos animais (BERNARDO *et al.*, 2016).

De acordo com Kocan *et al.* (2018) e Dahmani *et al.* (2015), até o momento seis patógenos da família *Anaplasmataceae* foram identificados como causadores de anaplasnose, incluindo *Anaplasma marginale* (sendo este o mais comum), *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma ovis* e *A. platys*.

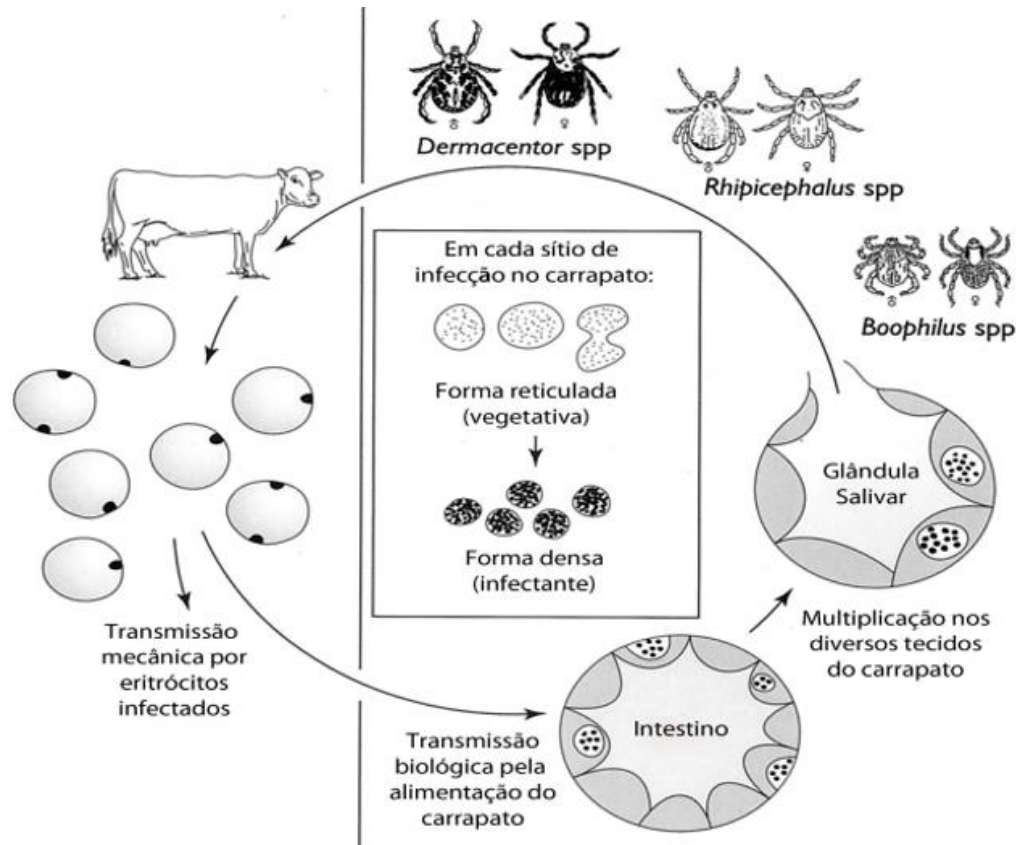
O período de incubação da infecção varia com a carga parasitária infectante, podendo variar de 7 a 76 dias, com média de 28 dias (SILVA *et al.*, 2021). Dentro da célula, a bactéria se multiplica e posteriormente deixa o eritrócito, infectando outras células para dar continuidade ao ciclo. Os eritrócitos são fagocitados pelo sistema retículo endotelial, culminando em hemólise. Após a detecção da infecção eritrocitária, o número de eritrócitos parasitados aumenta geometricamente, sendo fagocitados pelas células reticuloendoteliais, resultando em anemia leve a grave e icterícia sem hemoglobinemia e hemoglobinúria (PAIVA *et al.*, 2016).

Clinicamente é caracterizada por apresentar sintomas como prostração, hipertermia, anorexia, emagrecimento, diminuição dos movimentos de ruminação, taquicardia e taquipneia, podendo também ser observado icterícia, constituindo uma infecção causadora de muitas perdas produtivas, devido à sua alta morbidade (n).

O aumento brusco da parasitemia na forma aguda evolui para anemia hemolítica e icterícia, portanto parâmetros hematológicos e bioquímicos podem ser usados para avaliar a gravidade da enfermidade (BERNARDO, *et al.*, 2016). Na figura 1 está exposto o ciclo da anaplasnose em bovinos.



**Figura 1.** Ciclo da anaplasmoze em bovinos, desde a infecção do carrapato à contaminação dos eritrócitos.



Fonte: adaptado de Kocan *et al.* (2003).

#### 2.2.1.1. *Anaplasma platys*

*Anaplasma platys* apresenta morfologia bastante variável. É um patógeno que ocorre em todos os continentes, sendo maior a prevalência em regiões de clima tropical e subtropical (MARTINEZ *et al.*, 2021). Acredita-se que a transmissão da bactéria ocorra pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (DIERINGS E WILMSEN, 2021), que inicialmente parasita cães, apesar de já ter sido encontrado em outras espécies, inclusive no Brasil (ANDRÉ *et al.*, 2020), já que em estudos recentes, cepas geneticamente relacionadas a *A. platys* (*A. platys-like*) foram detectadas em ruminantes (ovinos, caprinos, veados, camelos e bovinos).

Segundo Guastali *et al.* (2021), *A. platys*, provoca uma trombocitopenia cíclica nas espécies afetadas a intervalos de 10 a 14 dias a qual é observada alguns dias após a infecção e

depois desaparece da circulação. A trombocitopenia não é tão comumente observada nas outras espécies de *Anaplasma* spp.

### 2.2.2. *Babesia* spp.

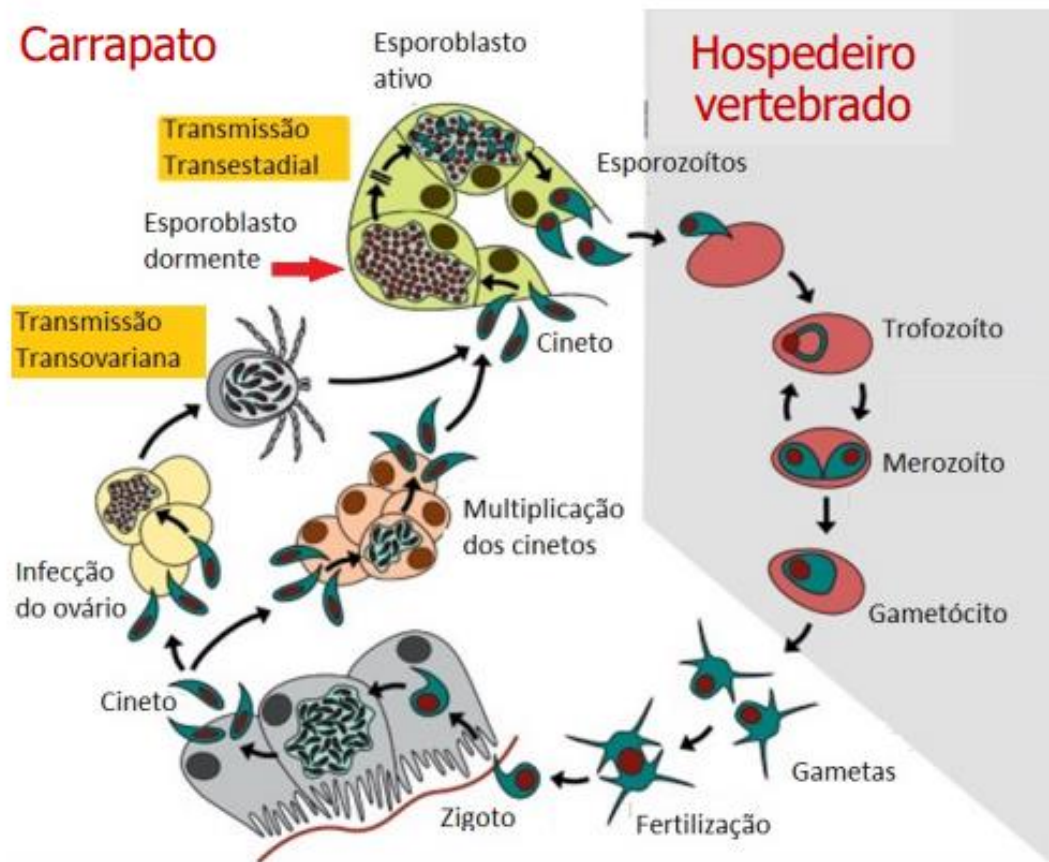
Conforme Silva *et al.* (2021), *Babesia* spp. são organismos intraeritrocitários de distribuição mundial, com ciclo de vida bastante complexo. Possuem mais de 100 espécies descritas até o momento, e é o segundo parasita sanguíneo mais comumente encontrado em mamíferos, sendo superado apenas por espécies do gênero *Trypanosoma*.

O risco de infecção por *Babesia* spp. em bezerros é determinado região por diversos fatores, como a probabilidade de ser infestado por carrapatos infectados; número de picadas de carrapatos que recebem diariamente e proporção da infecção nas larvas de *R. microplus* (COSTA *et al.*, 2021).

A infecção pelo parasito sofre variações conforme a idade do hospedeiro e a resistência à idade inversa. Animais jovens são menos suscetíveis à infecção e animais mais velhos são mais suscetíveis à infecção. As espécies também interferem, sendo que *Bos indicus* são mais resistentes aos vetores citados do que *Bos taurus*. Além disso, imunodeficiência pode ser observada em animais previamente infectados (LAHA *et al.*, 2015). A infecção ocorre conforme demonstrado na Figura 4.

De acordo com Quevedo *et al.* (2020), a infecção pelos protozoários *Babesia* spp. provoca hemólise intravascular de efeitos potencialmente fatais, podendo ser observado um quadro neurológico grave em decorrência da congestão dos capilares encefálicos, com hemácias parasitadas. A consequente hipóxia no sistema nervoso central culmina com manifestações de incoordenação motora, andar cambaleante, agressividade e movimentos de pedalagem. Observa-se também anemia regenerativa no hemograma, tendo como causa a hemólise intravascular e extravascular (VIEIRA, 2019).

**Figura 2.** Ciclo biológico da *Babesia* spp., com as fases de desenvolvimento do parasita no carrapato e no hospedeiro.



Fonte: Jalovecka *et al.* (2019).

### 3 – OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

- Verificar a ocorrência de *Anaplasma platys* e *Babesia* spp. em amostras de sangue de bovinos de leite em Guarapuava – PR e região.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Detectar a presença de DNA de *A. platys* e *Babesia* spp. em amostras de sangue de bovinos leiteiros em Guarapuava e região por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

- Identificar, por meio de eritogramas, plaquetogramas e esfregaços sanguíneos, possíveis alterações hematológicas que possam estar relacionadas aos hemoparasitas.

- Analisar dados epidemiológicos associados à ocorrência dos agentes nas propriedades rurais conforme especificidades de manejo por meio da aplicação de questionário.

## **4 – MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Local e delineamento experimental**

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética Animal pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unicentro sob protocolo nº 014/2021.

A Microrregião Geográfica de Guarapuava faz parte da mesorregião geográfica Centro-Sul Paranaense, com uma população censitária de 378.086 pessoas, numa área territorial de 16.188,955 km<sup>2</sup>. O clima na região de Guarapuava é do tipo Cfb (Subtropical Úmido Mesotérmico), com temperatura média anual de 18,8°C., umidade relativa do ar de 60% e índice pluviométrico de 1920 mm/ano (BUENO *et al.*, 2020).

Os critérios utilizados para a escolha dos municípios envolvidos na pesquisa foram de que estes estivessem na região Centro-sul do Paraná e que dispusessem de propriedades de produção leiteira, independentemente do número de animais, sistemas de criação ou quaisquer outros parâmetros de seleção.

Foram selecionadas 76 propriedades de bovinocultura leiteira localizadas no município de Guarapuava e região (Figura 5), que incluíram Prudentópolis, Turvo, Pinhão, Reserva do Iguaçu, Foz do Jordão, Candói, Cantagalo, Campina do Simão, Boaventura de São Roque, Marquinho e Goioxim.

**Figura 3.** Localização de Guarapuava e municípios vizinhos referentes à pesquisa de *Anaplasma platys* e *Babesia* spp. nos anos de 2021/2022.



Fonte: Adaptado de Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social (IPARDES).

Para o cálculo amostral foram considerados dados da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado do Paraná (2019), levando em consideração o número de vacas em lactação por município, e este valor acrescido de 40% para o valor total aproximado de animais leiteiros, pois estima-se que esta é a porcentagem de animais de um rebanho leiteiro que possivelmente não tenha apresentado produtividade naquele ano. Realizando a soma, tem-se o número aproximado total de bovinos leiteiros. Considerando 95% de grau de confiança, 5% de erro e 1.5 de deff, chegou-se ao “n” de 509 amostras (Tabela 1).

O único critério para a escolha das 76 propriedades participantes foi de que fossem propriedades leiteiras. Da mesma forma, os animais escolhidos para a colheita de amostras foram os com aptidão leiteira, independentemente de sexo, idade ou categoria.

**Tabela 1.** Levantamento do rebanho leiteiro do município de Guarapuava e demais cidades da região no ano de 2019.

<b>Município</b>	<b>Nº propriedades visitadas</b>	<b>Vacas ordenhadas (SEAB 2019)</b>	<b>Nº total de animais leiteiros</b>	<b>Amostras coletadas</b>
Prudentópolis	8	4410	7350	77
Candói	8	3588	5980	62
Goioxim	10	3998	5597	64
Guarapuava	8	3838	5373	54
Pinhão	15	2848	3987	86
Boaventura	6	1560	2600	37
De S. Roque				
Turvo	7	1498	2497	27
Reserva do Iguaçu	10	1428	2000	64
Campina do Simão	1	741	1234	12
Foz do Jordão	1	686	960	12
Marquinho	1	505	842	8
Cantagalo	1	372	595	6
<b>Total de animais</b>		<b>25472</b>	<b>39015</b>	<b>509</b>

#### 4.2. Colheita de sangue

As amostras foram obtidas no período de agosto de 2021 a maio de 2022, sendo colhidos 5 mL de sangue total de cada animal, por meio de punção da veia coccígea, acondicionados em tubos com anticoagulante Ácido Etileno Diamino Tetracetato de Potássio (EDTA-K3) e identificadas com o número de registro do animal e número da propriedade. Após, eram colocadas em caixas térmicas e encaminhadas ao laboratório de Patologia Clínica

Veterinária/UNICENTRO para processamento das amostras, e após o congelamento para posterior análise da PCR.

#### 4.3. Eritrograma e Plaquetograma

Em 244 amostras de um total de 509 colhidas foram realizados eritrogramas (hematócrito, concentração de hemoglobina, número de hemácias) e plaquetograma, em analisador automático SDH 3-Vet<sup>®</sup>, e confeccionados esfregaço sanguíneo para análise qualitativa das hemácias e presença de inclusões intracelulares em microscopia óptica de imersão, sugestivas de *A. platys* e *Babesia* spp.

#### 4.4. Extração de DNA

A extração de DNA de sangue total, foi realizada no laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), por meio do protocolo de extração com Fenol -Clorofórmio com padronização do volume da amostra para extração de 150 µL de sangue total. As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, 200 µg de amostra foram transferidas para microtubos de polipropileno de 1,5 mL, acrescentando após SDS 10% e proteinase K (20mg/mL), e incubado a 65°C em termobloco por 60 min. Em seguida foi acrescentado fenol e realizou-se centrifugação a 13000 g por 5 min. Ao sobrenadante transferido, foi adicionado clorofórmio/fenol/álcool isoamílico (24:25:1) submetendo novamente à centrifugação a 13000 g por 5 min. Novamente transferiu-se o sobrenadante translúcido, acrescentando Acetato Amônio 7,5M (AA) e etanol 100%. A amostra então foi submetida a -20°C por 1 hora. Após, centrifugou-se a 13000g por 15 min e descartou-se o sobrenadante e adicionou etanol 70% antes de nova centrifugação a 13000 g por 15 min. O sedimento final foi armazenado em estufa a 37°C por 1 hora para evaporação total do álcool e outros reagentes. Após esse período foi hidratado e armazenado a -20°C.

As primeiras 15 amostras que obtiveram seu DNA extraído foram submetidas à visualização sob luz ultravioleta como prerrogativa de que a extração estava ocorrendo sem adversidades.

#### 4.5. Reação em Cadeia pela Polimerase - PCR

A técnica de PCR ocorreu no laboratório de Protozoologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL). As amostras foram testadas para *A. platys* e *Babesia* spp. Os controles

positivos constituíam-se de DNA de *A. platys* e *Babesia* spp., respectivamente, extraídos de sangue de bovinos que obtiveram resultados positivos. Para o controle negativo foi utilizado água ultrapura.

#### 4.5.1. *A. platys*

Para a amplificação de *A. platys*, utilizou-se para a amplificação os primers Platys 16SF ( Exxtend®, Brasil, 5' – AAGTCGAACGGATTTTTTGTC – 3') e Platys 15SR ( Exxtend®, Brasil, 5' – CTCTCCCGGACTCTAGTC – 3') (SILVA *et al.*, 2012), tendo como base o protocolo descrito por SILVA *et.al* (2012) com adaptações em um volume final de 25 µL. A composição final da reação foi de 7,30 µL de H<sub>2</sub>O MiliQ, 1µL de primer 16SF, 1 µL de primer 16SR, 12,5 µL de Mix 1,5 (com dNTPs), 0,20µL de Taq e 3µL de DNA, totalizando 25 µL.

As amostras foram submetidas ao termociclador, obedecendo ao ciclo de 94°C por 1 minuto no primeiro estágio, seguido de um novo ciclo de 38 repetições a 94°C por 1 minuto, 60°C por 1 minuto e 72°C por 7 minutos e na sequência 4°C até o final do ciclo, que totalizou 2 horas e 40 minutos.

#### 4.5.2. *Babesia* spp.

Na amplificação de fragmentos de DNA de *Babesia* spp., utilizaram-se os primers 18S rRNA ( Exxtend®, Brasil 5' CCGTGCTAATTGTAGGGCTAATACA3') e 18S rRNA ( Exxtend®, Brasil 3'GCTTGAAACACTCTARTTTTCTCAAAG), seguindo o protocolo de Almeida (2011) em um volume final de 25µL. A composição da mistura foi de 5,25 µL de H<sub>2</sub>O MiliQ, 1µL de cada primer, 12,5 µL de Mix 1,5, 0,25 µL de Taq e 5 µL de DNA.

As amostras foram submetidas a ciclo, obedecendo ao ciclo de 95°C por 5 minutos, seguido de um novo ciclo de 38 repetições a 94°C/11 segundos, 58°C/1 minuto e 72°C/1 minuto, finalizando com 72°C/7 minutos e na sequência 4°C até o final do ciclo.

#### 4.5.3. Detecção e visualização da amplificação

Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen®) e visualizado sob luz ultravioleta.

Para a leitura de resultados, o comprimento dos produtos amplificados foi estimado utilizando um padrão de pares de base (10X BlueJuice®, Invitrogen) consideraram-se positivos



para *A. platys* e *Babesia* spp. amostras com presença de amplificação de DNA de 504 pb (SILVA *et al.*, 2012) e 350 pb (ALMEIDA *et al.*, 2011), respectivamente.

#### 4.6 Questionários

Após a coleta, os produtores rurais responderam a um questionário epidemiológico (Anexo 1), de forma orientada, com informações referentes à propriedade, aos animais e ao manejo nutricional, sanitário e reprodutivo, totalizando 76 questionários. Alguns produtores não tinham conhecimento de todas as informações requeridas.

Os resultados foram tabulados em planilha do software Microsoft Office Excel® e para melhor correlação com os patógenos investigados, as respostas foram agrupadas conforme sistema de manejo, sendo subdivididas em questionamentos sobre sistema de criação, manejo nutricional e manejo sanitário.

## 5 – RESULTADOS

### 5.1. Eritrograma e Plaquetograma

Dos 244 eritrogramas e plaquetogramas realizados observou-se que 8,6% dos animais apresentavam anemia (21/244), destes 18 animais eram positivos para *Babesia* spp e 3 positivos para *A. platys*. Os animais que apresentaram coinfeção não apresentaram anemia. As principais alterações observadas no esfregaço sanguíneo foram 2,04% policromasia (5/244), 0,81% hipocromia (2/244), anisocitose em 2,04% (5/244). Na pesquisa para hemoparasitos, não foram observadas inclusões intracelulares em hemácias sugestivas para *Babesia* spp e nem nas plaquetas que fossem sugestivas de *A. platys*. Quanto ao número de plaquetas, 11,06% (27/244) apresentaram alterações, sendo 10,65% (26/244) com trombocitopenia e 0,4% (1/244) com trombocitose.

Os resultados das médias dos eritrogramas e plaquetogramas estão demonstrados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Valores médios, mínimo e máximo dos eritogramas e plaquetogramas de 244 vacas leiteiras na pesquisa de *A. platys* e *Babesia* spp em municípios de Guarapuava e região (2022)

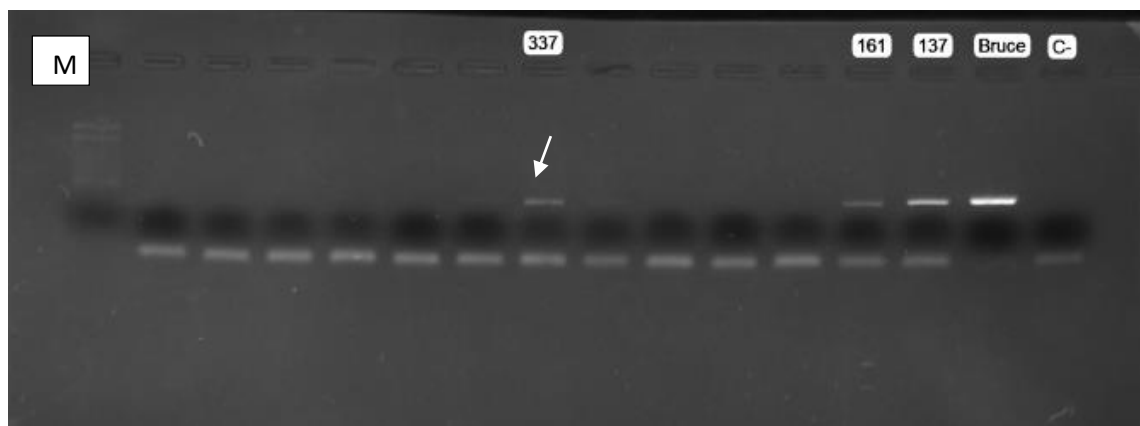
	Valores de Referência*	Média	Mínimo	Máximo
<b>Hematócrito (%)</b>	24 – 45	26,7	13,80	40,30
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	8 – 15	9,5	4,0	13
<b>Hemácias (x10<sup>6</sup>/ mm<sup>3</sup>)</b>	5 – 10	6,5	3,0	11
<b>Plaquetas (x10<sup>3</sup>)</b>	100 – 800	285,9	30	849

\* SCHALM'S Veterinary Hematology (2000).

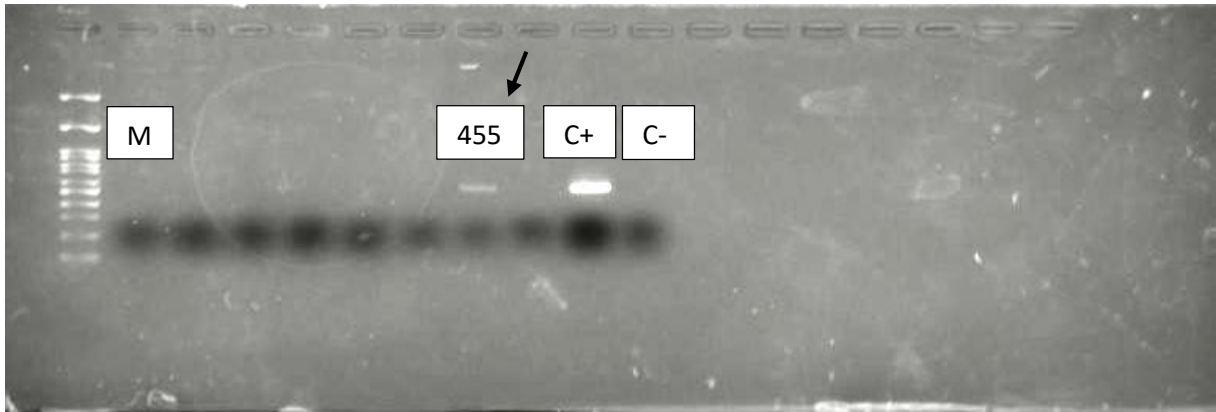
## 5.2. PCR

Do total das amostras analisadas, houve amplificação de DNA em 22,00% (112/509) para *Babesia* spp. (Figura 4), 2,75% (14/509) para *A. platys* (Figura 5) e 0,58 % apresentaram coinfeção (3/509).

**Figura 4.** Eletroforese demonstrando a leitura de DNA genômico de 15 amostras de bovinos leiteiros para detecção de *Babesia* spp. A seta aponta a amostra com resultado positivo. M – marcador de peso molecular (1000 pb), 337 – amostra positiva, 161, 137 e Bruce – controles positivos, C- controle negativo.



**Figura 5.** Eletroforese demonstrando a leitura de DNA genômico de 7 amostras de bovinos leiteiros para detecção de *A. platys*. A seta aponta uma das amostras com resultado positivo. M – marcador de peso molecular (1000 pb), C+ - controle positivo, C- controle negativo.



### 5.3. Questionários

Foram aplicados 76 questionários, correspondentes a uma pessoa entrevistada por propriedade. As respostas foram agrupadas conforme sistema de criação, produtividade leiteira, manejo sanitário e idade dos animais.

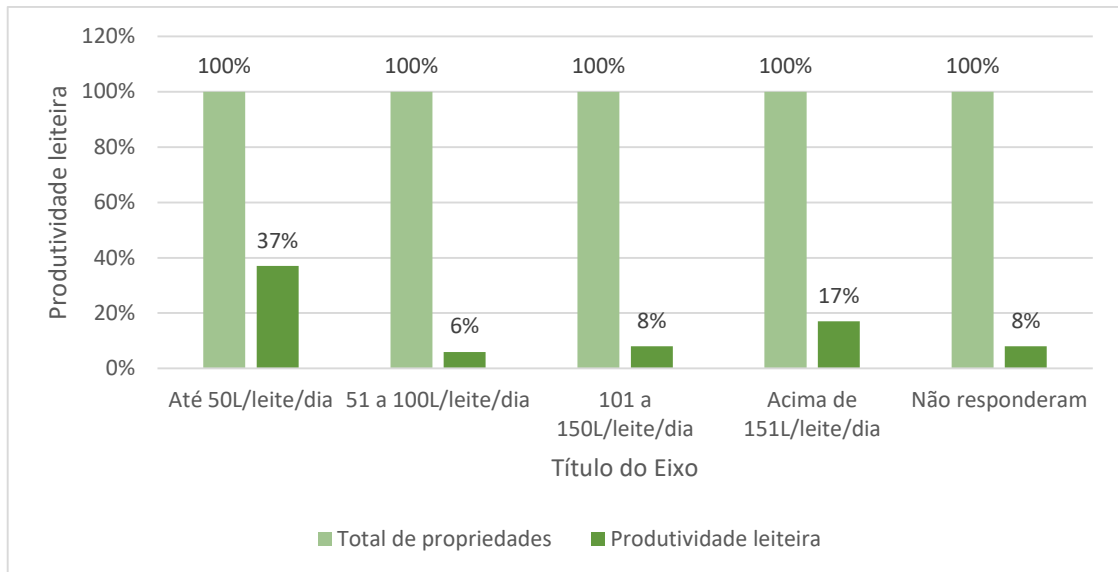
A Tabela 3 traz o percentual de propriedades em cada um dos sistemas de manejo adotados, conforme o relato dos produtores.

**Tabela 3.** Percentual dos sistemas de criação adotados nas 76 propriedades de bovinos de leite pesquisadas, segundo o relatado no questionário.

Sistema de Criação	Nº propriedades	%
Pecuária Leiteira semi-intensiva	36	47,3
Pecuária Leiteira extensiva	21	27,6
Não souberam responder	8	10,5
Pecuária Leiteira intensiva	5	6,5

Quanto à produtividade leiteira, 49% das propriedades produziam até 50L de leite ao dia, e 22% mais de 150L de leite ao dia (Figura 6).

**Figura 6.** Classificação das 76 propriedades leiteiras de Guarapuava e região participantes do estudo, de acordo com a produtividade de leite do rebanho (Litros de leite produzidos/dia) no ano de 2022.



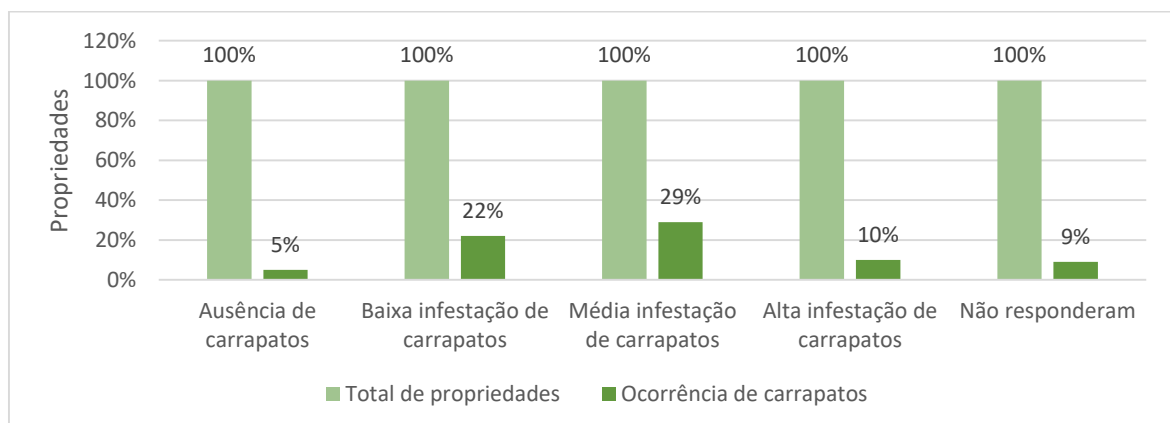
Sobre a utilização de produtos carrapaticidas, 78,94% dos produtores relataram fazer uso destes, 6,57% disseram não utilizar e 14,47% não responderam (Tabela 4).

**Tabela 4.** Características quanto à incidência e nível de infestação de carrapatos e uso de carrapaticidas, levando em consideração o relatado em questionário (2022).

<b>Manejo Sanitário</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
<b>propriedades</b>		
<b>1. Incidência carrapatos</b>		
Baixa infestação	22	28,94
Média infestação	29	38,15
Alta infestação	10	13,15
Ausência	5	6,57
Não responderam	9	11,84
<b>2. Uso de carrapaticidas</b>		
Sim	60	78,94
Não	5	6,57
Não responderam	11	14,47

Quanto à ocorrência de carrapatos, 39% (29/76) apresentaram média infestação, enquanto apenas 7% (5/76) relataram não ter a presença do ectoparasita na propriedade (Figura 7).

**Figura 7.** Grau de incidência de carrapatos em bovinos leiteiros nas 76 propriedades leiteiras de Guarapuava/PR e região, conforme visualização pelo produtor durante manejo diário dos animais (2022).

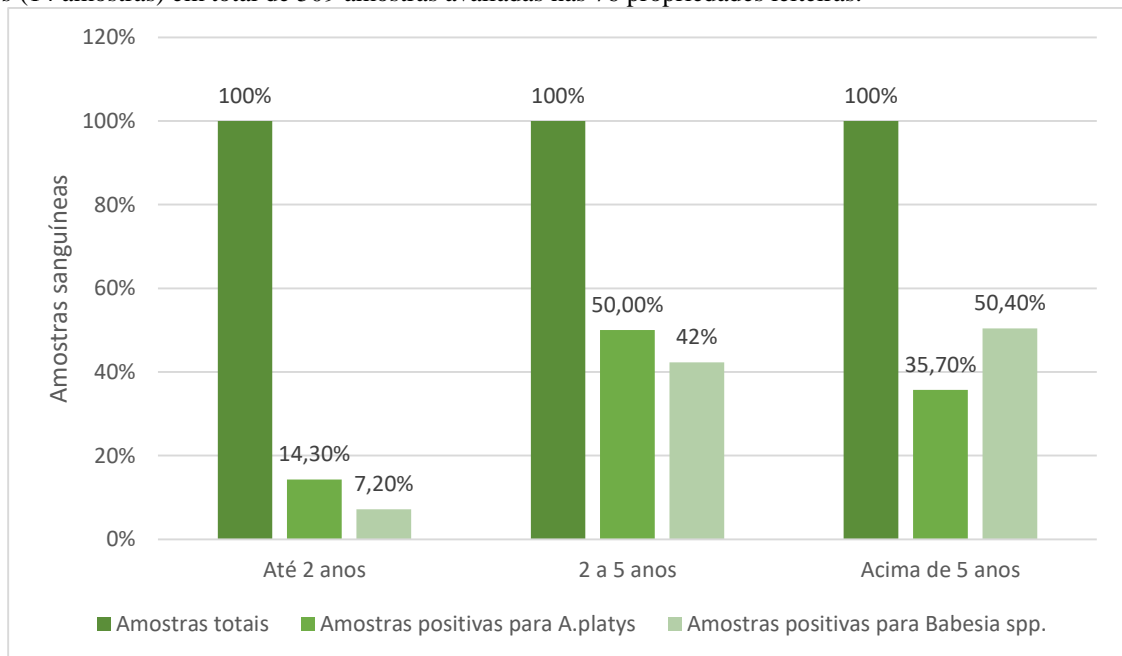


A relação da idade dos bovinos com resultados positivos para *A. platys* e *Babesia* spp. estão demonstrados na Figura 8.

*A. platys* foi detectada nos municípios de Turvo com 35,71% (5/14), Prudentópolis e Reserva do Iguaçu com 21,42% (3/14), Cantagalo, Pinhão e Foz do Jordão com 7,14% (1/14) dos casos.

*Babesia* spp. apresentou amostras positivas nos municípios de Prudentópolis com 25,00% (28/112), Goioxim com 22,32% (25/112), Pinhão com 10,71% (12/112), Reserva do Iguaçu com 8,03% (9/112), Boaventura de São Roque, Candói e Turvo com 7,14% (8/112), Cantagalo e Guarapuava com 3,57% (4/112), Campina do Simão e Marquinho com 2,67% (3/112). Estes índices estão descritos na tabela 5.

**Figura 8.** Relação da idade dos bovinos com PCR positivos para *Babesia* spp. (112 amostras) e *Anaplasma platys* (14 amostras) em total de 509 amostras avaliadas nas 76 propriedades leiteiras.



**Tabela 5.** Relação de municípios e número de amostras de sangue bovino positivos para *A. platys* (total de 14 amostras positivas) e *Babesia* spp. (total de 112 amostras positivas) de propriedades leiteiras de Guarapuava e região.

Municípios	Nº amostras positivas <i>A. platys</i>	%	Nº amostras positivas <i>Babesia</i> spp.	%
Prudentópolis	3	21,42	28	25,00
Goioxim	0	0	25	22,32
Pinhão	1	7,14	12	10,71
Reserva do Iguaçu	3	21,42	9	8,03

Foz do Jordão	1	7,14	0	0,00
Boaventura de São Roque	0	0	8	7,14
Candói	0	0	8	7,14
Turvo	5	35,71	8	7,14
Cantagalo	1	7,14	4	3,57
Guarapuava	0	0	4	3,57
Campina do Simão	0	0	3	2,67
Marquinho	0	0	3	2,67

As características de sistemas de criação, produção leiteira e presença de carrapatos apresentadas nas propriedades que constaram animais positivos para *Babesia spp.* estão detalhadas na tabela 6.

**Tabela 6.** Características de manejos adotados pelas propriedades leiteiras com bovinos leiteiros detectados com *A.platys* e/ou *Babesia spp.*

<b>Características</b>	<b>Nº propriedades</b>	<b>%</b>
Propriedades positivas para <i>Babesia spp.</i> e/ou <i>A.platys</i>	42	100
<b>Sistema de criação</b>		
Semi-intensivo	28	66,6
Intensivo	11	26,1
Não responderam	3	7,1
<b>Produção Leiteira (L leite/dia)</b>		
Até 50L	14	33,3
51 a 100L	4	9,5
101 a 150L	8	19
Mais de 151L	13	30,9

Não responderam	3	7,1
<b>Características</b>	<b>Nº propriedades</b>	<b>%</b>
<b>Presença de carrapatos</b>		
Baixa infestação	14	33,3
Média infestação	15	35,7
Alta infestação	9	21,4
Não responderam	4	9,5

## 6 – DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo molecular transversal de pesquisa de *A. platys* e *Babesia* spp. em bovinos leiteiros no município de Guarapuava/PR e região. O significativo número de amostras analisadas e a ocorrência de *A. platys* e de *Babesia* spp. evidenciam a relevante presença destes hemoparasitos nos rebanhos leiteiros da região. Neste trabalho, mostramos pela primeira vez a ocorrência de *A. platys* e a coinfeção de *A. platys* e *Babesia* spp., em bovinos leiteiros no Brasil.

*Anaplasma platys* tem como hospedeiro principal o cão e ocasiona a infecção de plaquetas, responsável por provocar a trombocitopenia cíclica nesta espécie (DUMLER *et al.*, 2001). Recentemente no Brasil, André *et al.* (2020) detectaram *A. platys* em bovinos de corte no Pantanal Mato-grossense e relacionaram a ocorrência deste agente na região devido à proximidade de animais silvestres como cervídeos; a correlação foi feita a partir da pesquisa de Sacchi *et al.* (2012), em que detectaram na divisa entre São Paulo e Mato Grosso do Sul *Anaplasma* spp. relacionados a *A. platys* em veados do Pantanal (*Blastocerus dichotomus*). Os autores inferiram que o vetor, *R. (Boophilus) microplus*, seria capaz de infectar bovinos na região do Pantanal por meio do fenômeno denominado “spillover” por compartilharem a mesma pastagem com os cervídeos. Neste caso, o carrapato bovino passaria a ser vetor de *A. platys* pela interação constante com ambas as espécies animais.

Zobba *et al.* (2014) identificaram uma nova cepa de *A. platys* em ruminantes na Itália (bovinos, ovinos e caprinos), que denominaram *A. platys-like*, o qual apresenta 99% de



similaridade com *A. platys* rrs e 92-93% de similaridade com *A. platys* groEL, e foi posicionada como uma subclasse dentro da classe do *A. platys*. Desta forma, será necessário realizarmos o sequenciamento do *A. platys* encontrado neste trabalho, para verificarmos sua classificação.

*A. platys* e *A. platys-like* têm sido relatados em ruminantes em várias regiões do mundo, como Senegal (DJIBA *et al.*, 2013), China (LI *et al.*, 2015), Argélia (DAHMANI *et al.*, 2015), Arábia Saudita (BASTOS *et al.*, 2015), Tunísia (SELMY *et al.*, 2019), Irã (SHARIFIYAZDI *et al.*, 2016), Nigéria (LORUSSO *et al.*, 2016), Moçambique (FERNANDES *et al.*, 2019), e no Brasil, em veados na divisa entre os Estados de São Paulo e Mato Grosso, por Sacchi *et al.* (2012), e mais recentemente em bovinos de corte no Pantanal mato-grossense por André *et al.* (2020). *A. platys* tem cães como principais hospedeiros, nos quais infecta plaquetas e é responsável por causar trombocitopenia cíclica canina. A cepa semelhante a *a. platys* infecta neutrófilos em ruminantes ao invés de plaquetas, como esperado. Estudos referentes à patogenicidade e vetores ainda são desconhecidos (ANDRÉ *et al.*, 2020).

Por meio dos questionários aplicados nas propriedades rurais, detectou-se que em 77,63% (59/76) das propriedades rurais possuíam cães. Um estudo realizado por Costa (2007), em Minas Gerais para detecção de *A. platys* e *Babesia* spp. em cães, verificaram maior prevalência de *Anaplasma platys* (11,69%) em cães de áreas rurais quando comparado com cães de áreas urbanas (5,1%), e inferiram este resultado a uma maior exposição dos cães rurais aos vetores bem como ao não tratamento com acaricidas quando comparados aos cães de áreas urbanas. Não encontramos nenhum estudo referente a ocorrência de *A. platys* em cães de áreas rurais nesta região, porém Ribeiro *et al.* (2017) relataram a ocorrência de *A. platys* em cães não domiciliados na região sudoeste do Paraná, onde encontraram 32,9% dos 182 cães avaliados.

É possível que a proximidade entre cães e bovinos, permita que os vetores de um infectem o outro, uma vez que outras espécies de carrapatos possam atuar como vetores, como detectados molecularmente por Chae *et al.* (2008) em ninfas e adultos de Ixodidea de *Haemaphysalis longicornis* e *H. flava*, larvas e ninfas de *Ixodes nipponensis*; também encontrado em *R. sanguineus* por Campos-Calderon *et al.* (2016), *Rhipicephalus microplus* (TAY *et al.*, 2014), *R. bursa* (CHISU *et al.*, 2018).

Com relação à coinfeção do *A. platys* e *Babesia* spp., observado neste trabalho em três animais, não foi encontrado relatos no mundo até o momento, portanto, não é possível inferir o real significado desta doença nesta espécie animal.

Em um estudo de revisão por meta-análise realizado por Ferreira *et al.* (2022), encontraram prevalência para *Babesia* spp no Brasil de 31,5 % e na região Sul 9,5%, considerando rebanhos de corte e leite. Osaki *et al.* (2002) no município de Umuarama, localizada na região Noroeste do Paraná, observaram soroprevalência para *B. bovis* de 64,22% (149/232). Já Marana *et al.* (2009) observaram prevalência de 58,74% *A. marginale* em rebanhos leiteiros na região Centro- Sul do Paraná, na mesma região onde este trabalho foi realizado.

Vieira *et al.* (2019) estudaram uma população de 257 bovinos na região de Campos de Lages/SC, cujo clima é considerado subtropical e de instabilidade enzoótica, verificaram a prevalência de 29% de *Babesia bovis* e 16% *Babesia bigemina*.

Segundo Puentes e Riet-Correa (2023), no Brasil é difícil estabelecer uma concepção geral da epidemiologia da TPB, devido à complexidade existente em cada bioma, porém é fundamental continuar realizando estudos para melhor caracterizar a epidemiologia nas diferentes regiões do Brasil. E, acrescentamos ser importante investigar o envolvimento destes agentes com potencial zoonótico, pois, em um estudo realizado por Espinosa- Muñoz *et al.* (2022) na Colômbia, verificaram a ocorrência de 14,8% (21/143) para *Babesia bigemina* em pessoas, em sua grande maioria (83,2%) moradores de áreas rurais que exerciam várias funções como pecuaristas, trabalhadores rurais, médicos-veterinários e administradores da fazenda.

Com relação as alterações hematológicas, observamos que o hematócrito da maioria dos animais positivos para *Babesia* spp estavam dentro dos valores de referência (88/244), entre 24% e 45% (SCHALM'S, 2010); somente 8,6% (21/244) apresentaram anemia do tipo regenerativa, destes 18 eram positivos para *Babesia* spp, a qual é citada por Bernardo *et al.* (2016) como a alteração hematológica mais encontrada na infecção por este agente.

No estudo de Lagranha (2017), que investigou a presença de agentes da TPB na fronteira oeste do Rio Grande do Sul, os resultados hematológicos de animais parasitados e não parasitados também apresentaram pouca diferença entre si, sendo que o hematócrito de animais parasitados foi mais baixo que o de animais sadios. Como não foram observadas inclusões dos hemoparasitas, é possível que bovinos mesmo estando positivos não apresentem quadros mais graves de alterações eritrocitárias, considerando que as variações dependem do indivíduo e de sua taxa de infecção.

Desta forma, os resultados do eritrograma e plaquetograma, associado à baixa sensibilidade da pesquisa de hemoparasitos em esfregaço sanguíneo, já que somente em 244

das amostras coletadas foram realizadas as referidas análises, nos mostrou que o hemograma não deve ser utilizado separadamente, mas em associação com testes moleculares para confirmação da presença de diferentes cepas de hemoparasitos que possam estar presentes em determinado local.

A maioria dos animais positivos para ambos os agentes, encontravam-se na faixa etária acima dos 2 anos de idade. No entanto, animais mais velhos regularmente apresentam baixa incidência de *A.platys* e *Babesia* spp. (WRIGHT *et al.*, 1992). É possível, neste caso, que a primo-infecção nos rebanhos tenha ocorrido em idade avançada, o que se caracteriza pela ocorrência de surtos da doença em animais adultos e, conseqüentemente, altas taxas de mortalidade (COSTA *et al.*, 2021).

Guarapuava e região encontram-se em uma zona de instabilidade enzoótica, onde a estação de seca ou frio impedem o desenvolvimento da fase de vida livre do carrapato por grande parte do tempo, além da redução em populações de mosquitos e moscas hematófagas, fazendo com que os bovinos passem uma época do ano sem contato com o parasita ou com poucos carrapatos, não desenvolvendo imunidade duradoura contra a doença (SILVEIRA *et al.*, 2017).

As propriedades deste estudo apresentavam diversas situações de manejo e produtividade, conforme a avaliação do questionário sanitário aplicado junto aos produtores rurais. Evidenciou-se que a maioria das propriedades (47,30%) adotavam o sistema de criação semi-intensivo, sendo que estas apresentaram maior percentual de propriedades com presença dos ectoparasitos (66,60%). Em um sistema onde o animal permanece grande parte do dia a pasto, manejos de controle do carrapato envolvem várias ações, dentre elas o cuidado com as pastagens, levando em consideração a rotação de piquetes e os períodos de descanso. O baixo índice de trabalhos que demonstrem análises de relações entre fatores de manejo produtivo e risco da incidência de carrapatos ocorre em função da dificuldade de coleta e análise de dados, uma vez que esse tipo de estudo demanda de vasto conhecimento em áreas diversas (KEMER, 2020), além do que muitas vezes as informações não são facilmente obtidas junto ao produtor.

Apesar do manejo de controle do carrapato envolver várias ações junto à propriedade, a ação considerada de maior facilidade pelo produtor continua sendo o uso de produtos químicos (carrapaticidas), os quais são utilizados pela maioria das propriedades visitadas (78,94%) independentemente do nível de infestação que esteja ocorrendo, como evidenciado

no questionário. Este é, possivelmente, um fator de interferência que pode tornar o carrapato mais resistente.

Neste trabalho, observou-se que alguns fatores de manejo como os sistemas de criação e uso de carrapaticidas interferem na ocorrência do complexo TPB, sugerindo que propriedades com sistema menos intensivo de criação estão mais suscetíveis à casos da enfermidade, e de que a maioria das propriedades faz uso de carrapaticidas de forma constante, muitas vezes independente do carrapato estar presente naquele momento.

Ao avaliar os dados obtidos com relação à produção leiteira das propriedades que obtiveram resultados positivos, não é possível sugerir relação direta com a presença de *A. platys* e *Babesia* spp. nos animais e a produção leiteira, já que a distribuição entre menores quantidades de litros de leite produzidos ao dia (até 50L) foi praticamente igual para propriedades que produzem mais 150 L de leite ao dia. Conforme descrito por Marana *et al.* (2009), ao realizarem estudo de soroprevalência de *A. marginale* em rebanhos bovinos da região Centro-Sul do Estado do Paraná, também não encontraram associação significativa entre a soropositividade e variáveis como sistema de produção de leite, tipo de ordenha, entre outras.

Enfim, o significativo número de amostras analisadas e a prevalência de *A. platys* e de *Babesia* spp., aliadas aos resultados obtidos nos questionários aplicados nas propriedades evidenciam a relevante presença destes parasitas sanguíneos nos rebanhos leiteiros da região. A correta identificação de possíveis causadores do complexo Tristeza Parasitária Bovina é ponto crucial para o tratamento ideal e principalmente para a definição de melhores estratégias de prevenção ao problema. Portanto, torna-se necessário mais estudos, a fim de entendermos e estabelecermos qual importância, principalmente do *A. platys* em bovinos, visto que ainda não se conhece seu potencial patogênico e seus vetores, e assim avaliarmos seu impacto sobre a saúde animal e humana.

## **7 – CONCLUSÕES**

Este estudo mostrou a ocorrência de *Babesia* spp e *A. platys* e coinfeção por estes dois agentes, relatados pela vez no Brasil em bovinos leiteiros.

Os sistemas de criação e uso de carrapaticidas interferem na ocorrência do complexo TPB, sugerindo que propriedades com sistema menos intensivo de criação estão mais suscetíveis à casos da enfermidade.

## 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAPAR - Agência de Defesa Agropecuária do Paraná. Levantamento do rebanho leiteiro e produtividade leiteira dos municípios do Paraná. Curitiba, 2019.

ALMEIDA, A. P. Pesquisa de Rickettsia, Ehrlichia, Anaplasma, Babesia, Hepatozoon e Leishmania em Cachorro-do-mato (Cercyon thous) de vida livre do Estado do Espírito Santo. Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

ALMEIDA, L.S.; MARCHIORI, L.S.; BARIONI, G.; MORAES, T.M.A.; OLIVEIRA, R.E. Comparação entre métodos de avaliação direta para o diagnóstico de babesiose em bovinos. Research, Society and Development, Itajubá, v. 08, n. 10, P. 47 – 51, 2019.

ANDRÉ, M.R., CALCHIA, A.C., HERRERA, H.M., ZANATTOA, D.C.S., HORTA, B.C.S., TASSOA, R.B., RAMOSA, I.A.S., MELLO, V.V.C., MACHADO, R.Z. The co-infection with *Ehrlichia minasensis*, *Anaplasma marginale* and *Anaplasma platys* is not associated with anemia in beef cattle in the Brazilian Pantanal. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, Amsterdam, v. 21, p. 01 – 09, 2020.

BASTOS, A.D.S., MOHAMMED, O.B., BENNETT, N.C., PETEVINOSA, C., ALAGAILI, A.N. Molecular detection of novel Anaplasmataceae closely related to *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). Veterinary Microbiology. 179, 310–314, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.06.001>.

BERNARDO, F.D.; CONHIZAK, C.; AMBROSINI, F.; 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. Revista Brasileira de Ciências Veterinárias. v. 23, n. 3-4, p. 152-156, 2016.

BRANDÃO, V.M.D., BARROZO, P.H.M., SOUSA, L.O., SANTOS, R.C., SCWANKE, K., SAMPAIO JÚNIOR, F.D., PRADO, W.S., AMARAL, A.S., CAVALCANTE, G.G. Molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs from municipality of Belém, State of Pará, Brazil. Ciência Rural, Santa Maria, v.49, p.12, 2019.

BUENO, J.C.M; JADOSKI, S.O.; LIMA, V. BUENO, N.M.M. Eno fases e características da precipitação e temperatura na região de Guarapuava, sul do Brasil. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, v. 9, n. 5, pág.74 - 95, 2020.

CAMPOS-CALDERON, L., ABREGO-SANCHEZ, L., SOLORZANO-MORALES, A., ALBERTI, A., TORE, G., ZOBBA, R., JIMENEZ-ROCHA, A.E., DOLZ, G. Molecular detection and identification of Rickettsiales pathogens in dog ticks from Costa Rica. Ticks and Borne Diseases , v.7,1198–1202, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.07.015>

CHAE J.S., YU DO H., SHRINGI S., KLEIN T.A., KIM H.C., CHONG S.T., LEE I.Y. & FOLEY, J. Microbial pathogens in ticks, rodents and a shrew in northern Gyeonggi-do near the DMZ, Korea. Journal Veterinary Science, 9:285-293, 2008.

CHISU, V., ZOBBA, R., LECIS, R., SOTGIU, F., MASALA, G., FOXI, C., PISU, D., ALBERTI, A. GroEL typing and phylogeny of *Anaplasma* species in ticks from domestic and wild vertebrates. *Ticks Tick Borne Disease*. 9, 31–36, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.10.012>.

CORREA, E., PALUDO, G.R., SCALON, J., MACHADO, A., LIMA, A.C.Q., TEIXEIRA, A., PINTO, J.B., THIEBAUT, T., ALBERNAZ, A.P. Molecular investigation of *Ehrlichia spp.* and *Anaplasma platys* in domestic cats: clinical signs, hematological and biochemical alterations. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, p. 899 – 909, 2011.

COSTA, M.O.; CARVALHO, S.R.; GOMES, L.G.; STOCOCO, M.B.; SPILLER, P.R.; FARIA, E.F.; NOGUEIRA, E.N.N.; DALL'ACQUA, P.C.; PAULA, E.M.N.; MENDES, A. Os desafios do complexo de sela parasitária bovina – BPS. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, Vargem Grande Paulista*. v.10, n. 6, 2021.

DAHMANI, M.; DAVOUST, B.; BENTERKI, M.S.; FENOLLAR, F.; RAOULT, D. Development of a new PCR-based assay to detect *Anaplasmataceae* and the first report of *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma platys* in cattle from Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. v. 39, p. 39 – 45, 2015.

DELLA PASQUA, E. L., FREITAS, E.S. Avaliação in vitro de carrapaticidas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, no Oeste do Estado do Paraná, Brasil. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária, Cascavel*, v. 03, p. 65 – 72, 2020.

DIERINGS, C.A.; WILMSEN, M.O. Tristeza Parasitária Bovina: Revisão. *Brazilian Journal of Development, Curitiba*, v.7, n.6, p. 57- 63, 2021.

DJIBA, M.L., MEDIANNIKOV, O., MBENGUE, M., THIONGANE, Y., MOLEZ, J.F., SECK, M.T., FENOLLAR, F., RAOULT, D., NDIAYE, M. Survey of *Anaplasmataceae* bacteria in sheep from Senegal. *Tropical Animal Health Production*, v. 45, p. 1557–1561, 2013. <https://doi.org/101007/s11250-013-0399-y>.

ESPINHOSA-MUÑOZ, D.Y, LÓPEZ-LÓPEZ, L., RÍOS-OSORIO, L.A., GUTIÉRREZ, L.A. Detection of *Babesia* and the associated factors in cattle and humans from Magdalena Medio region, Colombia. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 90-91, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2022.101900>.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa. Pesquisa agropecuária em municípios. Brasília, 2019.

FERNANDES, S. J., MATOSA, C.A., FRESCHIC, C.R., RAMOSA, I. A. S., MACHADO, R.Z., ANDRÉA, M.R. Diversity of *Anaplasma* species in cattle in Mozambique. *Ticks and Tick-borne diseases*, v. 10, p. 661 – 664, 2019.

FERREIRA, G.C.M.; CANOZZI, M.E.A.; PERIPOLLI, V.; MOURA, G.P.; SANCHEZ, J.; MARTINS, C.E.N. Prevalence of bovine *Babesia spp.*, *Anaplasma marginale*, and their co-infections in Latin America: Systematic review-meta-analysis. *Ticks and Tick-borne Diseases*, v. 13, n. 4, 2022.

GUASTALI, A.P. Anaplasmosse e babesiose em bezerras leiteiras: revisão bibliográfica. Repositório Universidade Estadual Paulista (Unesp), São Paulo, v. 53, 2021.

KOCAN, K.M.; DE LA FUENTE J.; GUGLIELMO, A.A.; MELÉNDEZ, R.D.; Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, v.16, p. 698-712, 2003.

LAGRANHA, C.S.; BILO, G.R.; ZAMBIAZI, A.S.; SILVA FILHO, M.R.P.; KAIBER, D.A. CORREA, T.G. Prevalência dos agentes da Tristeza Parasitária Bovina na fronteira oeste do Rio Grande do Sul. *Periódicos da Universidade Federal do Pampa*, 9º SIEPE, v.321, 2017.

LAHA, R. Morphology, epidemiology, and phylogeny of *Babesia*: An overview. *Tropical Parasitology*, v. 5, p. 94-100, 2015.

LI, Y., YANG, J., CHEN, Z., QIN, G., LI, Y., LI, Q., LIU, J., LIU, Z., GUAN, G., YIN, H., LUO, J., ZHANG, L. *Anaplasma* infection of Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) and ticks in Xinjiang, China. *Parasitology Vectors*, v.8, 313, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0931-1>.

LORUSSO, V., WIJNVELD, M., MAJEKODUNMI, A.O., DONGKUM, C., FAJINMI, A., DOGO, A.G., THRUSFIELD, M., MUGENYI, A., VAUMOURIN, E., IGWEH, A.C., JONGEJAN, F., WELBURN, S.C., PICOZZI, K. Tick-borne pathogens of zoonotic and veterinary importance in Nigerian cattle. *Parasitology Vectors*, v.9, 217, 2016. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1504-7>.

KEMER, A. Manejo sanitário, resistência à carrapaticidas e prevalência dos agentes da Tristeza Parasitária Bovina em propriedades leiteiras do Planalto Serrano Catarinense, Sul do Brasil. Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2020.

MARANA, E. R. M.; DIAS, J. A.; FREIRE, R. L.; VICENTINI, J. C.; VIDOTTO, M. C.; VIDOTTO, O. Soroprevalência de *Anaplasma marginale* em bovinos da região Centro-Sul do Estado do Paraná, Brasil, por um teste imunoenzimático competitivo utilizando proteína recombinante MSP5-PR1. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 20- 26, 2009.

OSAKI SC, VIDOTTO O, MARANA ERM, VIDOTTO MC, YOSHIHARA E, PACHECO RC, *et al*. Ocorrência de anticorpos anti *Babesia bovis* e estudo sobre a infecção natural em bovinos da raça nelore, na região de Umuarama, Paraná, Brasil. *Brazilian Journal Veterinary Parasitology*, v. 11, n.2, p. 77-83, 2002.

PAIVA, R.R.; COSTA, R.R.L.T.; MARQUES, I.S.; SILVA, B.A.; FRANÇA, A.C.S.; MAYER, L.L.; SEAL, D.C.M.; DIAS, R.V.C. Anaplasmosse bovina- Relato de caso. *Revista de Agroecologia no Semi-árido*, v. 4, p.91-95, 2016.

PUNTES, J.D., RIET-CORREA, F. Epidemiological aspects of cattle tick fever in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 32, n.1, p.1-11. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023007>.

QUEVEDO, L.S.; QUEVEDO, P.S. Aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da babesiose bovina. Pubvet, Lages, v.14, n 09, p. 01 – 07, 2020.

RIBEIRO, C., MATOS, A., AZZOLINI, T., BONES, E.R., WASNIESKI, E.A., PEREIRA, V.B.R., LUCHEIS, S.B., VIDOTTO, O. Molecular epidemiology of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in stray dogs in Paraná, Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 37, p. 129 - 136, 2017.

SACCHI, A.B.V., DUARTE, J.M.B., ANDRÉ, M.R., MACHADO, R.Z. Prevalence and molecular characterization of Anaplasmataceae agents in freeranging Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 35, 325, 2012. 334. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.02.001>.

SCHALM, O. W. Veterinary hematology. Philadelphia, 2010, 1206 p.

SELMI, R., SAID, M.B., DHIBI, M., YAHIA, H.B., MESSADI, L. Improving specific detection and updating phylogenetic data related to *Anaplasma platys*-like strains infecting camels (*Camelus dromedarius*) and their ticks. Ticks Tick Borne Dis. 10,101260, 2019 <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.07.004>

SHARIFIYAZDI, H., JAFARI, S., GHANE, M., NAZIFI, S., SANATI, A. Molecular investigation of *Anaplasma* and *Ehrlichia* natural infections in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*) in Iran. Comp. Clin. Path. 26, 99–103, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00580-016-2350-x>.

SILVA, C.F., BENITEZ, A.N., GIROTTO, A., TARODA, A., VIDOTTO, M.C., GARCIA, J.L., SELWYN, A.H., VIDOTTO, O. Occurrence of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in household dogs from northern Parana. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v. 21, p. 379 – 385, 2012.

SILVA, M.M; SANTOS, S; FORMOSINHO, P; BACELLAR, F. Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. Acta Medica Portugal, Lisboa, v. 19. P. 39 -48, 2016.

SILVA, T.F.; ALVES-SOBRINHO, A.V.; LIMA, L.F.S.; ZIEMNICZAK, H.M.; FERRAZ, H.T.; LOPES, D.T.; SILVA, V.L.D.; BRAGA, I.A.; SATURNINO, K.C.; RAMOS, D.G. Tristeza parasitária bovina: Revisão. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, v. 10, n. 1, 2021.

STOBBE, N.S., CHAPLIN, E.L., PAIVA, M.G.S., ARAÚJO, F.A.P., SILVA, N .R .S. (1998). Diagnóstico laboratorial de hemocitozoários através da distensão de gota de coágulo de sangue. In: Congresso Estadual de Medicina Veterinária, Porto Alegre, 1988. Anais. Porto Alegre, SOVERGS, p. 61.

TAY, S.T., KOH, F.X., KHO, K.L., ONG, B.L. Molecular survey and sequence analysis of *Anaplasma* spp. in cattle and ticks in a Malaysian farm. Tropical Biomed., v.31, 769–776, 2014.

VIEIRA, L.L.; CANEVER, M.F.; CARDOZO, L.L.; CARDOSO, C.P.; HERKENHOFF, M.E.; THALER NETO, A.; VOGEL, C.I.G.; MILETTI, L.C. Prevalence of *Anaplasma marginale*,



*Babesia bovis*, and *Babesia bigemina* in cattle in the Campos de Lages region, Santa Catarina state, Brazil, estimated by multiplex-PCR. *Parasitology, Epidemiology and Control*, v.6, e00114, 2019.

WRIGHT, I.G.; CASU, R.; COMMINS, M.A.; DALRYMPLE, B.P.; GALE, K.R.; GOODGER, B.V.; RIDDLES, P.W.; WALTISBUHL, D.J.; ABETZ I.; BERRIE, D.A.; BOWLES, Y.; DIMMOCK, C.; HAYES, T.; KALNINS, H.; LEATH, G.; McCRAE, R.; MONTAGUE, P.E.; NISBET, I.T.; PARRODI, F.; PETERS, J.M.; SCHEIWE, P.C.; SMITH, W.; RODE-BRAMANIS, K.; WHITE, M.A. The development of a recombinant *Babesia* vaccine. *Veterinary Parasitology*, v. 44, p. 3 – 13, 1992.

ZOBBA, R., ANFOSSI, A.G., PINNA PARGAGLIA, M.L., DORE, G.M., CHESSA, B., SPEZZIGU, A., ROCCA, S., VISCO, S., PITTAU, M., ALBERTI, A., 2014. Molecular investigation and phylogeny of *Anaplasma* spp. In Mediterranean ruminants reveal the presence of neutrophil-tropic strains closely related to *A. platys*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.80, 271–280. <https://doi.org/10.1128/AEM.03129-13>.

**ANEXO**

**DADOS DA PROPRIEDADE E DOS ANIMAIS**

Data da Entrevista: ___/___/___	DATA ___/___/___								
Material coletado: <table border="1" style="margin-left: 40px;"> <tr><td>1</td><td>Sangue para hemograma</td></tr> <tr><td>2</td><td>Sangue para sorologia</td></tr> <tr><td>3</td><td>Fezes</td></tr> <tr><td>4</td><td>Leite</td></tr> </table>	1	Sangue para hemograma	2	Sangue para sorologia	3	Fezes	4	Leite	
1	Sangue para hemograma								
2	Sangue para sorologia								
3	Fezes								
4	Leite								
Iniciais do Entrevistador: ___ ___ ___	ENT ___ ___ ___								
Georreferenciamento  X:  _ _ _ _ _ _ _ _ _ _   Y:  _ _ _ _ _ _ _ _ _ _	X  _ _ _ _ _ _ _ _ _ _  Y  _ _ _ _ _ _ _ _ _ _								
Nome do entrevistado: _____ Idade do entrevistado: _____  Sexo: <table border="1" style="margin-left: 40px;"> <tr><td>1</td><td>Masculino</td></tr> <tr><td>3</td><td>Feminino</td></tr> <tr><td>2</td><td>Outros</td></tr> </table>	1	Masculino	3	Feminino	2	Outros	SEXO _____		
1	Masculino								
3	Feminino								
2	Outros								
Cidade: _____  Telefone fixo: _____  Telefone celular: _____	CID _____  TELFIX ( ) ____ - ____ TELCEL ( ) ____ - ____								

**1. DADOS ANIMAIS PERTENCENTES AO EXPERIMENTO**

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_ ]

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_ ]

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_ Animal N° \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

**2. Tipo de criação:** (a) de subsistência

(b) pec. leiteira intensiva

(c) pec. leit. Semi intensiva

(d) pec.leit. extensiva

(e) pec. de corte intensiva

(f) pec. corte semi-intensiva

(g) pec. corte extensiva

**3. Características raciais dos animais:** (a) europeu (b) zebú (c) mestiços

**4. Raça predominante**

- (a) holandês      (b) gir              (c) Girolanda  
 (d) jersey          (e) jersolando      (f) pardo-suíço  
 (g) outra: \_\_\_\_\_

**5. Alimentação volumosa:** (a) pastagem (b) silagem (c) forrageira (d) feno

**6. Possui assistência veterinária:** (a) sim (b) não

**7. Propriedade com IA:** (a) sim (b) não

**8. Vacinas efetuadas:** (a) febre aftosa (b) raiva (c) brucelose (d) leptospirose (e) BVD

(f) IBR (g) salmonelose-paratifo (h) diarréias víricas (i) diarréias bacterianas (j) campilobacteriose

(k) carbúnculo (clostridiose) (l) Teste PPD - resultado: \_\_\_\_\_

(m) outras: \_\_\_\_\_

**9. Brucelose:** (a) Quando?

(b) idade atual: \_\_\_\_\_

**10. Leptospirose:** (a) Quando?

(b) idade atual: \_\_\_\_\_

**11. Criação de bezerros:** (a) sim (b) não

**12. Bezerreiros:** (a) a campo (b) casinha (c) coletivo (d) outros: \_\_\_\_\_

**13. Alimentação:** (a) leite de vaca (b) leite em pó

**14. Realizada:** (a) na vaca (b) artificial-balde (c) artificial-mamadeira

**15. Colostro:** (a) sim (b) não

**16. Tipo de colostro:** (a) na vaca (b) fresco (c) descongelado

**17. Média de produção de leite por animal:**

**18. Produção de leite do rebanho:** (a) até 50 l (b) 51 a 100 l (c) 101 a 150 l (d) + de 150 l

(e) números de vacas lactantes:

**22. Número de ordenhas diárias:** (a) uma (bX) duas (c) três

**23. Higiene de ordenha:** (a) sim (b) não

**24. Limpeza:** (a) úbere (b) teto

**25. Utilização de:** (a) água/sabão (X) papel toalha (c) outro: \_\_\_\_\_

**26. Tipo de ordenha:** (a) manual (X) mecânica

**27. Realiza:** (a) pré dipping (b) pós dipping (X) os dois (d) nenhum

(e) Qual produto:

**28. Teste para mastite:** (a) caneca (b) CMT (c) caneca + CMT (X) não

**30. Presença de cão:** (a) sim (b) não quantos? \_\_\_\_\_

**Presença de gato:** (a) sim (b) não quantos? \_\_\_\_\_

**31. Criação mista:** (a) suíno (b) equino (c) ovino (d) caprino (e) outras espécies : \_\_\_\_\_

**32. Problemas reprodutivos:** (a) sim (b) não (c) faixa etária mais acometida: TODAS

**33. Fase de gestação acometida:** (a) terço inicial (b) terço médio (c) terço final

**34. Problemas reprodutivos mais frequentes:**

(a) metrite (b) corrimento (c) vulvovaginite (d) repetição de cio  
(e) abortament (f) natimortos (g) fetos mumificados (h) recém-natos debilitados  
o

(i) retenção de placenta (j) problemas durante o parto (k) anomalia congênita

(l) Outros: \_\_\_\_\_

**35. Frequência dos problemas reprodutivos:**

(a) 1ª cria (b) 2ª cria (c) 3ª cria (d) 4ª cria (e) todas as crias (f) não há

(g) outro: \_\_\_\_\_

**36. Diagnosticado:** (a) sim (b) não (c) Qual? \_\_\_\_\_

**37. Compra de animais:** (a) sim (b) não (c) Quando?

**38. Este animal apresentou problema?** (a) sim (b) não (c) Qual?

**39. Problemas neurológicos:** (a) sim (a) não (c) Faixa etária afetada: \_\_\_\_\_

(d) Quais? \_\_\_\_\_

**40. Diagnosticado:** (a) sim (b) não (c) Qual? \_\_\_\_\_

**41. Problemas respiratórios:** (a) sim (b) não (c) Faixa etária afetada: \_\_\_\_\_

**42. Diagnosticado:** (a) sim (b) não (c) Qual? \_\_\_\_\_

**43. Problemas digestivos:** (a) sim (b) não (c) Faixa etária afetada:

**44. Diagnosticado:** (a) sim (b) não (c) Qual? \_\_\_\_\_

**45. Verminoses:**

(a) sim (b) não (c) Qual? \_\_\_\_\_

**46. Anti-helmínticos utilizados:**

**47. Via de administração:** (a) oral (b) injetável (c) outro: \_\_\_\_\_

**48. Frequência:** (a) 1m (b) 2m (c) 3m (d) 4m (e) 6m (f) 1 ano (g) outro \_\_\_\_\_

**49. Rotação de anti-helmínticos:** (a) sim (b) não

**50. Presença de carrapatos:**

(a) baixa infestação (b) média infestação (c) alta infestação (d) ausência

**51. Época do ano que aparecem:**

(a) primavera (b) verão (c) outono (d) inverno (e) ano todo

**52. Uso de carrapaticida:** (a) sim (b) não

**53. Frequência:** (a) 15 dias (b) 20 dias (c) 30 dias (d) 2 m (e) 4 m (f) 6 m

(g) outro: \_\_\_\_\_ (h) Qual?

**54. Rotação de princípio ativo:** (a) sim (b) não (c) como é feita?: \_\_\_\_\_

**55. Tipo de aplicação:** (a) pulverização (b) Vol. médio por animal INDICADO DE BULA

(X) aspersão (d) injetável (X) pour on (f) outro: \_\_\_\_\_

**56. Uso de mosquicidas:** (a) sim (b) não (c) Qual? \_\_\_\_\_

**57. Aplicação:** (a) animal (b) instalações (c) esterco (d) outro: \_\_\_\_\_

**58. Tristeza Parasitária Bovina-TPB:** (a) sim (b) não

**Acomete:** (a) bezerro (b) novilha (o) (c) adulto

**Morte por TPB:** (a) sim (b) não (c) bezerro (d) novilha (o) (e) adulto

**Tratamento:** (a) sim (b) não (c) Qual? TERRAMICINA – GANAZEG – B12

**59. Procedência da água de consumo animal:** (a) mina (b) poço comum ((c) poço semi-artesiano

(d) sabesp (e) rio (f) represa (g) açude (pluvial) (h) outro: \_\_\_\_\_

**60. Destino dos excrementos dos animais:** (a) amontoado (b) enterrado (c) esterqueira (d) adubo animal (e) outros: \_\_\_\_\_

**61. Distância entre fossa ou depósito de fezes e fonte de água:** (a) 25m (b) maior que 25m

(c) menor que 25 m (d) outro: \_\_\_\_\_

**62. Localização da fossa ou depósito de fezes e fonte de água :** (a) acima (b) abaixo (c) ao lado

**63. Outras informações pertinentes ao ciclo da neosporose presenciadas na propriedade/animais:** \_\_\_\_\_