

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

ORLANDO AUGUSTO MELO JUNIOR

**HEMOPARASIToses BOVINAS NO MUNICÍPIO DE
BOM JESUS DO ITABAPOANA, RJ: ASPECTOS
CLÍNICOS E LABORATORIAIS**

Campos dos Goytacazes
2009

ORLANDO AUGUSTO MELO JUNIOR

**HEMOPARASITOSE BOVINAS NO MUNICÍPIO DE
BOM JESUS DO ITABAPOANA, RJ : ASPECTOS
CLÍNICOS E LABORATORIAIS**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal, linha de pesquisa Ensaios Farmacológicos, Afecções Clínicas e Cirúrgicas dos Animais.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Peixoto Albernaz

Campos dos Goytacazes
2009

ORLANDO AUGUSTO MELO JUNIOR

HEMOPARASITOSE BOVINAS NO MUNICÍPIO DE
BOM JESUS DO ITABAPOANA, RJ: ASPECTOS
CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal, e linha de pesquisa Ensaios Farmacológicos, Afecções Clínicas e Cirúrgicas dos Animais.

Campos dos Goytacazes, em 16 de Abril de 2009.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Cláudio Baptista de Carvalho (D.Sc., Clínica Médica) - UENF

Bianca Brand Ederli (D.Sc., Produção Animal) – Med.Vet. Autônoma

Prof. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho (D.Sc., Morfologia) – UENF

Prof. Antonio Peixoto Albernaz (D.Sc., Laboratório Clínico) - UENF
(Orientador)

Aos meus pais, Orlando Augusto de Melo e Maria da Penha Couto de Melo;
À minha querida esposa Daniela Ferreira Cardoso de Melo;
À minha irmã e madrinha Lucia Regina Melo Costa,
com todo o carinho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, onde foram desempenhados todos os procedimentos contidos nesta dissertação;

À prof^a. Dr^a Célia Rachel Quirino e ao prof. Dr. Olney Vieira da Motta, coordenadores dos programas de Pós-Graduação em Produção Animal e Ciência Animal, respectivamente;

Aos professores que colaboraram direta e indiretamente no apoio científico das disciplinas realizadas. Em especial aos professores: Cláudio Baptista de Carvalho e Leonardo Serafim da Silveira;

Ao prof. Dr. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho, pela sua ética e profissionalismo constatados desde a época em que cursava Medicina Veterinária na Universidade Federal Fluminense, e atualmente um dos meus maiores incentivadores na realização deste curso de Pós-graduação;

Ao amigo de faculdade e atualmente de trabalho, Dr. Ricardo Benjamim Machado Alves, pelo incentivo e auxílio nos momentos da elaboração deste trabalho;

Ao técnico de laboratório e amigo Josias Alves Machado, pela costumeira boa vontade em ajudar;

Aos técnicos agrícolas Julio Cezar de Meirelles e Jader Zacharias Freitas pelo incentivo e auxílio em várias etapas deste trabalho;

À secretária do Programa de Pós-Graduação, Jovana F. C. Campos, pelos esclarecimentos das dúvidas sobre o programa e pela presteza nos demais auxílios ao longo deste período;

Ao prof. Dr. José Tarcisio de Lima Thiebalt (UENF/CCTA/LEAG) pela assistência no processamento estatístico dos dados que foram utilizados neste trabalho;

Ao prof. Dr. Gustavo de Castro Xavier (UENF/CCT/LECIV) pela ajuda na elaboração dos gráficos estatísticos;

Ao Médico Veterinário da Prefeitura Municipal de Bom Jesus do Itabapoana, Dr. Antonio Carlos Faber da Silva, pela ajuda na seleção das propriedades rurais e pelo auxílio na coleta do material a campo;

Aos estagiários do setor de Patologia Clínica, pela ajuda dispensada durante o processamento das amostras;

Ao prof. Dr. Antonio Peixoto Albernaz, orientador, amigo e exemplo de profissional dedicado nesta universidade.

Meus sinceros agradecimentos.

"Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da Criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seu semelhante."

(Albert Schweitzer)

"Oh! Quão bom e quão suave é que os irmãos vivam em união! É como o óleo precioso sobre a cabeça, que desce sobre a barba, a barba de Arão, que desce sobre a gola de suas vestes, como o orvalho do Hermom, que desce sobre os montes de Sião; porque ali o Senhor ordenou a bênção, a vida para sempre."

(Salmo 133)

RESUMO

MELO JR, Orlando Augusto, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Abril de 2009. Hemoparasitoses bovinas no Município de Bom Jesus do Itabapoana , RJ. Orientador: Prof. Antonio Peixoto Albernaz.

As hemoparasitoses são consideradas um dos principais entraves ao desenvolvimento da bovinocultura mundial, principalmente em áreas tropicais e subtropicais. Tais doenças limitam o desenvolvimento da produção animal trazendo graves prejuízos econômicos e industriais. Os estudos relativos aos hemoparasitos, no rebanho bovino brasileiro, bem como no estado do Rio de Janeiro, estão relacionados, principalmente, com os protozoários dos gêneros *Babesia* (representados por *B. bigemina* e *B. bovis*) e aos organismos Rickettsiais, representados pelos gêneros *Ehrlichia* e *Anaplasma*. Para todos, existe uma grande variedade de testes laboratoriais que podem ser utilizados para o diagnóstico das espécies de hemoparasitos, desde os mais simples (esfregaços sangüíneos corados) até os mais sofisticados (ELISA, "Western Blot" e PCR), no entanto, a escolha do teste está condicionada ao custo de execução e da infra-estrutura e capacidade técnica de cada laboratório. No presente estudo foi realizada a coleta de sangue periférico em dois pontos anatômicos distintos (orelha e extremidade caudal) de 200 bovinos para realização do diagnóstico de hemoparasitos em esfregaços sangüíneos. Destes, 99 bovinos (49,5%) apresentavam pelo menos um hemoparasito. A freqüência das espécies diagnosticadas foi: *B. bigemina* (26,5%), *A. marginale* (24,5%), *A. bovis* (5,5%) e *B. bovis* (4,0%). Conclui-se que: os hemoparasitos: *A. marginale*, *B. bigemina*, *B. bovis* e *A. bovis*, ocorrem no rebanho bovino do município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ; a extremidade caudal e o pavilhão auricular, são excelentes pontos anatômicos de coleta para pesquisa de hemoparasitos; os achados hematoscópicos mais relevantes das hemoparasitoses foram eritrofagocitose e monócitos com citoplasma vacuolados.

Palavras-chave: Diagnóstico, Hemoparasitos, Bovinos, *Anaplasma*, *Babesia*.

ABSTRACT

MELO JR, Orlando Augusto, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. April; 2009. Hemoparasitosis bovine in the city of Bom Jesus do Itabapoana, RJ. Advisor: Prof. Antonio Peixoto Albernaz.

The hemoparasitosis are considered a major impediment to development of cattle worldwide, mainly in tropical and subtropical areas. These diseases limit the development of animal production causing serious economic and industrial losses. Studies on hemoparasite in the Brazilian cattle herd and at the state of Rio de Janeiro, are related, mainly due to the greater relevance with the protozoa of the genus *Babesia* (represented by *B. bigemina* and *B. bovis*) and rickettsia organisms, represented by genus *Ehrlichia* and *Anaplasma*. For all, there is a variety of laboratory tests that can be used for diagnosis of species of hemoparasite, from the simplest (stained blood smears) to the most sophisticated (ELISA, "Western blot and PCR), however, the choice of test is subject to the cost of implementation and the infrastructure and technical capacity of each laboratory. In the present study was performed to collect peripheral blood in two distinct anatomical points (ear and caudal end) of 200 cattle to perform the diagnosis in hemoparasite of smear blood. Of these, 99 cattle (49.5%) had at least one hemoparasite. The frequency of species identified were: *B. bigemina* (26,5%), *A. marginale* (24,5%), *A. bovis* (5,5%) and *B. bovis* (4,0%). It was concluded that: the hemoparasites: *A. marginale*, *B. bigemina*, *B. bovis* and *A. bovis*, occur in the bovine flock of the city of Bom Jesus do Itabapoana-RJ, Ear and tail are excellent anatomical points for the research of hemoparasites. The most relevant findings in optical microscopy has been phagocytosis of erythrocytes and vacuolated monocytes cytoplasm.

Key-Words: Diagnostic, Hemoparasite, Bovine, *Anaplasma*, *Babesia*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	HEMOPARASITOSE ROTINEIRAMENTE ENCONTRADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.....	12
2.1.1	ANAPLASMOSE.....	12
2.1.2	BABESIOSE.....	14
2.1.3	TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA.....	16
2.1.4	ERLIQUIOSE.....	18
2.2	DIAGNÓSTICO DOS HEMOPARASITOS.....	20
2.3	CONTROLE DOS HEMOPARASITOS.....	21
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1	AMOSTRAGEM.....	24
3.1.1	ANIMAIS.....	24
3.1.2	PROPRIEDADES RURAIS.....	24
3.2	AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	25
3.3	PROCEDIMENTO DE COLETA.....	25
3.3.1	COLETA DE SANGUE TOTAL.....	25
3.3.2	ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO.....	25
3.4	ANÁLISE LABORATORIAL.....	26
3.4.1	LOCAL.....	26
3.4.2	SANGUE TOTAL.....	26
3.4.3	ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO.....	26
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1	DIAGNÓSTICO E FREQUÊNCIA DOS HEMOPARASITOS.....	28
4.2	OCORRÊNCIAS DO HEMOPARASITISMO QUANTO AS REGIÕES DO MUNICÍPIO E PONTO ANATÔMICO DE COLETA..	31
4.2.1	REGIÕES	31
4.2.2	PONTO ANATÔMICO DE COLETA	32
4.3	ALTERAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS OBSERVADAS....	35
4.3.1	ALTERAÇÕES CLÍNICAS.....	35
4.3.2	ALTERAÇÕES LABORATORIAIS.....	36
4.4	DADOS DAS PROPRIEDADES RURAIS.....	39
5	CONCLUSÕES	41
6	REFERÊNCIAS	42
7	ANEXOS	50
	ANEXO A – Ficha clínica utilizada.....	51
	ANEXO B – Pranchas	52
	ANEXO C – Tabelas.....	55

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 038/2009

Melo Júnior, Orlando Augusto

Hemoparasitoses bovinas no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ : aspectos clínicos e laboratoriais / Orlando Augusto Melo Junior. – 2009.

58 f. : il.

Orientador: Antonio Peixoto Albernaz

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Bibliografia: f. 42 – 49.

1. Diagnóstico 2. Hemoparasito 3. Bovino 4. Anaplasma 5. Babesia
I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 636.20896

1 INTRODUÇÃO

Algumas enfermidades constituem fatores limitantes ao crescimento da bovinocultura mundial em áreas tropicais e subtropicais, dentre as quais, se destacam as hemoparasitoses, consideradas como um dos principais entraves à pecuária bovina. Estas doenças limitam o desenvolvimento da indústria e da produção animal (BROWN, 1997).

Os estudos concernentes aos hemoparasitos, no rebanho bovino brasileiro, bem como em quase toda a América Latina, estão relacionados aos protozoários dos gêneros *Babesia* (representados por *B. bigemina* e *B. bovis*) e *Trypanosoma* (representados por *T. vivax* e *T. theileri*), sendo transmitidos por artrópodes hematófagos com transmissão cíclica ou mecânica. A distribuição desses protozoários nos rebanhos depende de fatores ecológicos definidos, dentre os quais a existência de vetores adequados (MASSARD, 1984).

Com relação aos organismos Rickettsiais, os gêneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* e *Eperythrozoon* já foram diagnosticados no Brasil. Destes, o *A. marginale* tem sido considerado mais prevalente e com íntima relação ao quadro de Tristeza Parasitária Bovina (MASSARD, 1984).

O gênero *Ehrlichia* foi reorganizado em outros gêneros, baseado nas análises de similaridade genética entre os parasitos. Sendo assim, algumas espécies de *Ehrlichia* spp. foram unificadas com *Anaplasma* spp. incluindo a *E. bovis*, que passou a ser designada *A. bovis* (DUMLER et al., 2001).

A Tristeza Parasitária Bovina é um complexo de doenças causadas por infecções com *Babesia* sp. e *Anaplasma* sp., transmitidas por carrapatos (*Boophilus microplus*) e ou moscas hematófagas (*Stomoxys calcitrans*), constituindo-se fator limitante ao desenvolvimento da pecuária nos países tropicais e subtropicais (DEVOS, 1992).

No Brasil, os principais agentes etiológicos dessa enfermidade são *A. marginale*, *B. bovis* e *B. bigemina*. As perdas econômicas estão relacionadas com a redução na produção de carne e leite; infertilidade temporária de machos e fêmeas; custo com tratamentos e com medidas preventivas necessárias, quando se introduz animais de áreas livres em áreas endêmicas e; principalmente, devido à mortalidade (LIMA, 1991).

No estado do Rio de Janeiro, a mesorregião norte fluminense (composta pelos municípios de Campos dos Goytacazes, Macaé, Carapebús, São Fidelis, Quissamã, Conceição de Macabú, São Francisco do Itabapoana, Cardoso Moreira e São João da Barra), é considerada uma área de estabilidade enzoótica para *Babesia bovis* (SOARES et al., 2000) e *A. marginale* (SOUZA et al., 2000a) e de instabilidade enzoótica para *B. bigemina* (SOUZA et al., 2000b).

O objetivo geral deste trabalho foi verificar a ocorrência das espécies de hemoparasitos no rebanho bovino do município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ. Os objetivos específicos foram avaliar, estatisticamente, a ocorrência de hemoparasitos entre as regiões rurais, alta e baixa, do município, avaliar, os dois pontos anatômicos de coleta (pavilhão auricular e extremidade caudal) quanto à eficácia do diagnóstico em lâmina, além de evidenciar os achados hematoscópicos e as alterações clínico-laboratoriais mais relevantes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HEMOPARASITOSE BOVINAS ROTINEIRAMENTE ENCONTRADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

2.1.1 ANAPLASMOSE

Anaplasmosse bovina é uma enfermidade infecciosa causada por *Anaplasma marginale* e *A. centrale*, rickettsias da família Anaplasmataceae, ordem Rickettsiales. A espécie mais patogênica e de maior importância para bovinos é o *A. marginale*. Essa rickettsia apresenta-se como corpúsculos intra-eritrocitários, identificados em microscopia óptica como pequenos pontos escuros, de localização periférica, variando entre 0,1 µm a 0,8 µm (FARIAS, 1995).

Anaplasma marginale está presente nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (PALMER, 1989). Já foi diagnosticada na América do Norte, América Central, América do Sul, Austrália e Sudeste Africano (JAMES et al., 1985; DALGLIESH et al., 1990).

Nos Estados Unidos da América, anualmente, morrem de 50.000 a 100.000 bovinos devido à anaplasmosse acarretando prejuízos na ordem de US\$ 300 milhões. No Estado do Texas, a doença provoca óbito em 36% dos casos clínicos, 24% de aborto e uma perda de 86 kg de peso médio por animal, durante a fase aguda da infecção, além do aumento no custo com manejo e serviços veterinários (PALMER et al., 1986).

No Brasil, a infecção por *A. marginale* determina significativas perdas econômicas na pecuária (MADRUGA et al., 1984), entretanto, os prejuízos causados não foram estimados. No entanto, sabe-se que a anaplasmosse é uma das principais causas de mortalidade de bezerros no país (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1962; RIBEIRO et al., 1983; MADRUGA et al., 1984).

Anaplasma marginale é transmitida biológica e mecanicamente por um grupo variado de artrópodes (KREIER et al., 1991). No Brasil, o carrapato *Boophilus microplus* é o principal transmissor de *A. marginale* (MARTINS; CORRÊA, 1995) pelas vias mecânica e transestadial, entretanto, a via transovariana ainda está sendo estudada (CONNEL; HALL, 1972; RIBEIRO et al., 1995). Insetos hematófagos (mosquitos, moscas, tabanídeos) e agulhas contaminadas também contribuem para

a transmissão da anaplasmose (GUGLIELMONE, 1994; SOLARI; QUINTANA, 1994; FARIAS, 1995). A anaplasmose neonatal (NORTON et al., 1983) pode ocorrer quando há forma congênita de transmissão em bovinos (ZAUGG, 1985; RIBEIRO et al., 1995; ANDRADE, 1998).

Atualmente, verifica-se que existem artigos científicos demonstrando a nova classificação taxonômica do carrapato *Boophilus microplus*, ou seja, passou a ser denominado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Entretanto, alguns pesquisadores discordam desta nova classificação, onde não se aceita o gênero *Boophilus* como um subgênero de *Rhipicephalus*. Estes pesquisadores alegam que a diferença entre ambos os gêneros estão nas características morfológicas e biológicas e não unicamente em uma exibição de uma seqüência de certo número de bases genéticas (CAEIRO, 2006). Sendo assim, manter-se-a neste trabalho o nome antigo, conforme visto na maioria dos artigos utilizados nesta revisão literária.

Anaplasma marginale, causa as formas clínicas aguda, superaguda, leve e/ou crônica (MARTINS; CORREA, 1995), com período pré-patente variando de 20 a 40 dias. Ocorre acentuada diminuição no hematócrito, podendo mais de 75% dos eritrócitos estarem infectados quando ocorre o pico da enfermidade, com o quadro podendo persistir por até duas semanas (NASCIMENTO et. al., 1981). As alterações clínicas comumente observadas consistem de anemia hemolítica, icterícia, taquicardia, dispnéia, febre, fadiga, lacrimejamento, diarreia, sialorréia, anorexia, perda de peso, aborto, podendo o animal vir a óbito em menos de 24 horas (FARIAS, 1995).

Em um rebanho de animais susceptíveis, principalmente aqueles em processo de premunicação ou transportados de áreas endêmicas e/ou de instabilidade enzoótica, a mortalidade ocasionada pela anaplasmose é maior nos animais mais velhos (HUNGERFORD; SMITH, 1997). Os animais mais jovens adquirem a infecção e, quando apresentam sintomas clínicos, são mais resistentes do que os adultos. A explicação disto se deve ao fato de que animais mais jovens ainda apresentam soro e hemoglobina fetal, o que prejudica parcialmente a multiplicação do agente no sangue e determina uma maior atividade eritropoiética da medula óssea (RISTIC, 1960). Além disso, a presença de anticorpos maternos oriundos do colostro (CORRIER; GUZMAN, 1977) confere uma imunidade parcial. Dessa forma, animais mais velhos, susceptíveis, tendem a apresentar maiores parasitemias e uma anemia mais severa (GONÇALVES, 2000).

Nas áreas endêmicas e com alta população de vetores, os animais adquirem *A. marginale* nos primeiros dias de vida, sendo que o parasita aparece entre 50 a 74 dias de idade. Deste modo, o equilíbrio é estabelecido precocemente, pois esses animais se infectam logo após o nascimento e, conseqüentemente, apresentam parasitemia moderada (ERIKS et al., 1989).

No Estado do Rio de Janeiro, precisamente na região Norte Fluminense, foram desenvolvidos alguns estudos sobre hemoparasitos bovinos, inclusive *A. marginale*. Após a realização da soroprevalência de *A. marginale*, constatou-se que a mesorregião Norte Fluminense foi caracterizada como área de estabilidade enzoótica (SOUZA et al., 2000a).

Áreas de estabilidade enzoótica são aquelas onde existe equilíbrio entre imunidade e doença, onde 75% dos animais com idade acima de nove meses são portadores de hemoparasitos. Isso significa que a maioria desses animais está adquirindo a infecção ainda como bezerros (primo- infecção). Essa infecção vem sendo mantida assintomaticamente nos animais mais velhos através das reinfecções pela manutenção da população de *B. microplus*, infestando os animais durante todo ano e acarretando baixa mortalidade pelas hemoparasitoses em animais adultos. Já, as áreas de instabilidade enzoótica, onde a porcentagem de infecção em animais acima de 9 meses está entre 20 e 75%, sendo esses níveis detectados através de testes sorológicos. A primo-infecção é verificada em idade avançada. Ocorrem surtos da doença em animais adultos e, conseqüentemente, altas taxas de mortalidade (GONÇALVES, 2000).

2.1.2 BABESIOSE

O primeiro relato na historia sobre babesiose ocorreu em 1888, na Romênia, quando o pesquisador Babes, descreveu no sangue de gado que apresentava hemoglobinúria epizoótica, um parasita das hemácias que considerou uma bactéria e denominou *Haematococcus bovis*. Trabalhos pioneiros como o de Babes e de outros autores entre os anos de 1888 a 1893, relataram que várias outras espécies do mesmo tipo de parasita estavam parasitando diversos animais domésticos em todo o mundo; em honra a Babes, foram denominados *Babesia* (CORREA; CORREA, 1992).

No Brasil, *Babesia spp.* foi identificada pela primeira vez em 1901, por Fajardo, e em 1903 Misson verificou que, de 315 bovinos importados da Europa e Argentina, só sete resistiram à aclimação, possivelmente foram dizimados por babesiose (CORREA; CORREA, 1992).

A babesiose bovina, no Brasil, é causada pelos protozoários *B. bigemina* e *B. bovis*, ambos transmitidos pelo carrapato *Boophilus microplus* (FARIAS, 1995; KESSLER; SCHENK, 1998).

Babesia bigemina, é uma babesia grande; os elementos piriformes medem 4 a 5 x 2 µm; assim, considerando que as hemácias medem ao redor de 6 µm de diâmetro, ela é mais longa que o raio do glóbulo parasitado, porém não são incomuns formas arredondadas, que às vezes não são do tamanho do raio das hemácias. No entanto, *B. bovis*, é uma babesia pequena, pois seus elementos piriformes medem 2 x 1,5 µm; logo são menores que o raio das hemácias. Apesar do menor tamanho, esta espécie é considerada mais patogênica que a *B. bigemina*, principalmente por desencadear a babesiose cerebral em bovinos (CORREA; CORREA, 1992).

Infecções por *Babesia spp.* em bovinos são caracterizadas por febre, anemia, hemoglobinemia, hemoglobinúria e, em muitos casos, morte (EVERITT et al., 1986). Em alguns casos, além dos sinais citados anteriormente pode-se encontrar bovinos com anorexia, taquipnéia, taquicardia e distúrbios neurológicos que podem ser confundidos com outras doenças do sistema nervoso central, inclusive a raiva (RODRIGUES et al., 2005).

Segundo Santana et al.(2008), que estudaram a dinâmica da infecção natural por *B. bigemina* em bezerros criados extensivamente na região centro-oeste, na qual utilizaram a técnica do PCR para diagnosticar o hemoparasito a partir do nascimento até aproximadamente 165 dias de idade, citam que o maior número de primo-infecções ocorreu de 31 a 45 dias de idade. Também foi relatada a ocorrência do hemoparasito em um bezerro de dois dias de idade, sugerindo, transmissão transplacentária de *B. bigemina*.

As babesioses são responsáveis por graves danos à sanidade dos animais, além de grandes perdas econômicas na pecuária mundial (SOARES et al., 2000). No Brasil, dados do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, no ano de 1985, estimaram que os prejuízos causados por babesioses, juntamente com seu vetor, o

carrapato *B. microplus*, alcançaram a cifra de um bilhão de dólares para o país (SOUZA et al., 2000b).

No Brasil, segundo Gonçalves (2000), não existem trabalhos epizootiológicos que permitam um mapeamento de todo país determinando quais são as áreas livres, as áreas de estabilidade e as áreas de instabilidade enzoótica para a babesiose bovina. Entretanto, nota-se que alguns trabalhos científicos realizados no Estado do Rio de Janeiro têm por objetivo mapear epidemiologicamente as regiões, determinando quais são as áreas de estabilidade ou instabilidade enzoótica (SOARES et al., 2000; SOUZA et al., 2000b).

No Estado do Rio de Janeiro, mais precisamente na região norte, estudos recentemente realizados caracterizou esta região como área de estabilidade enzoótica para *B. bovis* (SOARES et al., 2000) e de instabilidade enzoótica para *B. bigemina* (SOUZA et al., 2000b).

2.1.3 TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA

A Tristeza Parasitária Bovina (TPB) é um complexo de doenças causadas por infecções com *Babesia* sp. e *Anaplasma* sp., transmitidas pelo carrapato *Boophilus microplus* ou por mosca hematófaga como a *Stomoxys calcitrans*, constituindo-se fator limitante ao desenvolvimento da pecuária nos países tropicais e subtropicais (DE VOS, 1992).

No Brasil, os principais agentes etiológicos dessa enfermidade são *A. marginale*, a *B. bovis* e a *B. bigemina* (LIMA, 1991).

A TPB apresenta alta morbidade e alta mortalidade, o que ocorre principalmente em zonas de instabilidade enzoótica (áreas epidêmicas), em que as condições climáticas determinam períodos mais ou menos longos sem a presença do carrapato *B. microplus*, transmissor desses agentes. Em consequência alguns animais não apresentam anticorpos contra *Babesia* spp. e *Anaplasma* sp., ou o nível de anticorpos contra a doença diminui consideravelmente favorecendo a ocorrência de surtos quando os animais entram novamente em contato com o agente (ALMEIDA et al., 2006).

Segundo Farias (2001), a flutuação populacional do *B. microplus* está relacionada à morbidade causada pela TPB, e a enfermidade que causam é devida, principalmente, à intensa destruição dos eritrócitos do hospedeiro. Segundo o autor

A. marginale além de ser transmitido mecanicamente por insetos hematófagos (moscas, mutucas e mosquitos), também pode ser transmitido por instrumentos durante a castração e vacinação.

Nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do país, consideradas áreas endêmicas ou de estabilidade enzoótica, os bezerros entram em contato com os hemoparasitas nos primeiros dias de vida, quando possuem proteção dos anticorpos colostrais. Ocorrem infecções subclínicas, casos clínicos isolados e; relativamente, baixa mortalidade. Entretanto, ocorrem às vezes, casos clínicos fatais em bezerros, além, dos animais adultos primo-infectados apresentarem alta taxa de morbidade e mortalidade (FARIAS, 2001).

O período de incubação de *A. marginale* comumente é superior a 20 dias enquanto de *Babesia* spp. varia de sete a 10 dias. Levando-se em consideração o fato de que a *B. bovis* é inoculada no bovino por larvas do carrapato a partir do primeiro dia de parasitismo, e que a *B. bigemina* começa a ser inoculada somente no estágio ninfal, isto é, cerca de oito dias após a fixação das larvas. Os bovinos não imunes, ao serem introduzidos, em um campo infestado por carrapatos com *Babesia* spp., apresentam sete a 10 dias após, os primeiros sinais clínicos de TPB, causados por *B. bovis* (inoculado pelas larvas) e, dias mais tarde (15 a 20 dias após a chegada), ocorrem os casos de babesiose por *B. bigemina*. Por conseguinte, os casos mais tardios de babesiose por *B. bigemina* podem coincidir com os primeiros casos de anaplasmose (FARIAS, 2001).

A TPB determina várias alterações clínicas. A ocorrência e a intensidade das alterações vão depender de fatores como espécies envolvidas, virulência, inóculo e sensibilidade do hospedeiro. As alterações clínicas comumente encontradas são: anorexia, hipertermia, pêlos eriçados, taquicardia, taquipnéia, redução dos movimentos de ruminação, anemia, icterícia (mais habitual e intensa na anaplasmose), hemoglobinúria (intensa na babesiose por *Babesia bigemina*), abatimento, prostração, redução ou suspensão da lactação e alterações neurológicas (incoordenação motora, andar cambaleante, movimentos de pedalagem e agressividade) característicos na babesiose cerebral provocada por *B. bovis*. Macroscopicamente, encontram-se animais com mucosas e serosas anêmicas ou ictericas, fígado e baço escuro, aumentados e congestos, linfonodos intumescidos e escuros, rins aumentados, vesícula biliar distendida com bile escura,

densa e grumosa, bexiga com urina vermelho-escuro (na babesiose por *B. bigemina*) ou levemente avermelhada (na babesiose por *B. bovis*) (FARIAS, 2001).

No diagnóstico da TPB, devem ser levados em consideração os dados epidemiológicos, os sinais clínicos e, também as lesões observadas na necropsia. Contudo, o diagnóstico conclusivo e específico só é possível por meio do exame laboratorial, com a identificação dos agentes em hemácias parasitadas (FARIAS, 2001).

Considerando a mortalidade e as perdas indiretas, como queda na produção de leite, diminuição do ganho de peso e custos do controle e profilaxia, foi estimado que o impacto econômico da TPB no Brasil poderia ultrapassar US\$ 500 milhões anuais (Grisi et al., 2002).

2.1.4 ERLIQUIOSE

A erliquiose é ocasionada por um grupo de bactérias, gram-negativas, intracelulares obrigatórias e pleomórficas, que parasitam células brancas circulantes de diferentes espécies de animais domésticos e silvestres, inclusive o homem (MACHADO, 2004).

A erliquiose bovina é causada pela *Ehrlichia bovis*. Entretanto, a posição taxonômica recentemente foi alterada, pois, o gênero *Ehrlichia* foi reorganizado em outros gêneros, baseando-se nas análises de similaridade genética entre os parasitos. Desta forma, algumas espécies de *Ehrlichia* foram unificadas com *Anaplasma*, incluindo a *E. bovis*, que passou a ser designada *A. bovis* (DUMLER et al., 2001).

Morfologicamente, as inclusões intracitoplasmáticas do parasito, caracterizam-se por ser um agrupamento de microorganismos em colônias circulares, poligonais ou elípticas, com bordos arredondados e dimensões que medem de 11 µm para as colônias maiores e de 1 a 2 µm para as colônias menores. Estas inclusões coram-se em vermelho, lilás ou azul púrpura, de acordo com a fase de desenvolvimento em que estão, podendo ser observadas em esfregaços sanguíneos periféricos corados por Giemsa, May-Grünwald-Giemsa (DONATIEN; LESTOQUARD, 1936 citado por SANTOS 2005) ou pelo corante Panótico® (SANTOS, 2005).

Estudos pioneiros realizados por Donatien e Lestoquard, nas décadas de 30 e 40 onde os pesquisadores compararam morfológicamente *E. bovis* e outras riquetsias como *E. canis*, *E. ovina*, *Cowdria ruminantium*, *Colesiota conjunctivae* e *Rickettsia conorii* concluíram que as mencionadas riquetsias eram similares morfológicamente e apresentavam três estágios de desenvolvimento denominados corpos elementares, que são constituídos de pequenas inclusões intracitoplasmáticas de microrganismos; corpos iniciais para as inclusões de grandes massas homogêneas e mórulas, representando as maiores inclusões, superando em tamanho os corpos iniciais. Tal formação, provavelmente, é o resultado da separação de uma grande inclusão, considerada como transitória. Os mesmos pesquisadores relataram que as citadas mórulas foram freqüentemente encontradas em infecções causadas por *E. bovis*, *E. ovina*, *E. canis* e raramente nas infecções causadas por *C. ruminantium* e *R. conorii* (SANTOS, 2005).

O ciclo biológico das espécies do gênero *Ehrlichia* não está completamente descrito, mas sabe-se que a reprodução ocorre primeiro por fissão binária dos corpos elementares e que os estágios de desenvolvimento encontrados nos cães são idênticos aos encontrados nos carrapatos (RIKIHISA, 1991).

Epidemiologicamente sabe-se que a *E. bovis* esta presente em várias regiões do mundo, como a África, Sri Lanka, Irã, Guadalupe e inclusive no Brasil e que seus transmissores são carrapatos *Hyaloma* sp., *Amblyomma cajanense* e *A. variegatum* (SANTOS, 2005).

Anaplasma bovis foi descrito em Massachusetts, EUA, por Goethert e Telford (2003), empregando a metodologia de PCR, técnica de diagnóstico também utilizado por Ooshiro et al. (2008) para detectar o mesmo hemoparasito na ilha de Okinawa, Japão. Estes foram os primeiros relatos de *A. bovis* na América do Norte e Ásia, respectivamente.

No Brasil, o primeiro relato de *A. bovis* foi realizado por Massard e Massard (1982), que diagnosticaram o hemoparasito, em esfregaços sangüíneos corados pelo Giemsa, no citoplasma de células mononucleares de 11 bovinos com idade inferior a um ano. Posteriormente, a doença foi diagnosticada pelos mesmos autores em bovinos clinicamente sadios que provavelmente apresentavam a forma crônica da doença. Também foi diagnosticado, em alguns dos animais positivos, a associação de *E. bovis* com *B. bigemina*, *B. bovis* e/ou *A. marginale*.

No Estado do Rio de Janeiro, a *A. bovis* foi reportada inicialmente no município de Itaguaí. Posteriormente surgiu em várias localidades da Região Sul Fluminense e Serrana, destacando-se os municípios de Rio Claro, Barra Mansa, Valença, Barra do Piraí e Petrópolis (MASSARD, 1984) e recentemente na Região Norte Fluminense, com destaque para a microrregião de Campos dos Goytacazes (SANTOS; CARVALHO, 2006).

Finelle (1958) após diagnosticar *E. bovis* em bovinos na República Centro Africana, relatou que o referido hemoparasito tem sido considerado pouco patogênico. Entretanto, em condições desfavoráveis, ou quando associado a outras doenças, pode provocar graves danos a sanidade animal, até mesmo, a morte dos animais infectados.

A Erliquiose bovina determina uma série de alterações de ordem hematológica e clínica. Nesta última, pode-se observar febre, linfadenomegalia e alterações do estado geral do animal (DONATIEN; LESTOQUARD 1936; GIRARD; ROSSELOT, 1945; MASSARD, 1984, SREEKUMAR et al. ,2000; SANTOS, 2005). Enquanto que na hematologia foram relatados pelos autores leucocitose, eosinopenia, monocitose e inúmeros monócitos apresentando citoplasma vacuolado (GIRARD; ROUSSELOT, 1945; MASSARD, 1984; SANTOS, 2005).

O diagnóstico de *A. bovis* em esfregaços sangüíneos corados pelo Giemsa ou panótico (SANTOS, 2005) é confirmado quando existem inclusões em forma de grânulos cocóides, arredondados ou ovais, agrupados em colônias, geralmente localizadas em vacúolos no citoplasma da célula hospedeira. A coloração observada pode ser ligeiramente diferente da do núcleo da célula, em tonalidade azul púrpura, lilás ou vermelho (MASSARD; MASSARD, 1982; MASSARD, 1984; SANTOS, 2005).

2.2 DIAGNÓSTICO DOS HEMOPARASITOS

Diferentes autores demonstram uma grande variedade de testes laboratoriais que podem ser utilizados para o diagnóstico das várias espécies de hemoparasitos no Brasil, desde os mais simples (esfregaços sangüíneos corados por Giemsa ou Panótico®, testes de aglutinação e fixação de complemento) até os mais sofisticados (ELISA, “Western Blot” e PCR). No entanto, a escolha do teste estará diretamente relacionada com a facilidade e custo da execução e dos reagentes, da infra-estrutura e capacidade técnica de cada laboratório (VIDOTO; MARANA, 2001).

2.3 CONTROLE DOS HEMOPARASITOS

Os métodos de profilaxia empregados para as hemoparasitoses são: o controle dos vetores, a quimioprofilaxia, a premunicação e o uso de vacinas (GONÇALVES, 2000).

O controle de carrapato constitui-se em uma medida de controle importante nas hemoparasitoses, principalmente da TPB e pode ser implementado em dois níveis: erradicação e controle estratégico. A campanha de erradicação do carrapato *B. microplus* foi iniciada nos Estados Unidos em 1906 e é mantida atualmente pela vigilância sanitária (RISTIC; MONTENEGRO-JAMES, 1988).

No Brasil, é utilizado o controle estratégico em determinadas áreas (OLIVEIRA, 1993), mas freqüentemente, tem-se observado o uso indiscriminado de produtos carrapaticidas. Com a finalidade de aumentar a produtividade, os pecuaristas têm adotado técnicas de manejo como a estabulação e a obtenção de animais com melhor potencial genético. Essas práticas têm colaborado para a proliferação da população de carrapatos e, assim, aumentar as áreas de instabilidade enzoótica. Portanto, o carrapato não deve ser erradicado da propriedade, e sim controlado, de forma que os animais sejam parasitados durante todo o ano com baixas infestações, permitindo assim doses infectantes adequadas de *Babesia* spp. O controle de carrapato, associado à imunização de animais susceptíveis, constitui uma medida apropriada de profilaxia dessa hemoparasitose em determinadas áreas de instabilidade enzoótica. Para a anaplasnose, deve-se manter o controle de moscas na propriedade, principalmente nos períodos chuvosos, quando a população de dípteros hematófagos é maior, controlando assim as taxas de infecção por *A. marginale* (GONÇALVES, 2000).

A quimioprofilaxia baseia-se no uso de drogas específicas em doses subterapêuticas. Para as babesioses, utiliza-se o dipropionato de imidocarb na dosagem de $1-2\text{mg.kg}^{-1}$, com resultados bastante satisfatórios nos bezerros ao serem colocados a pasto. Esse procedimento evita a presença do agente no organismo ou mantém sua população em níveis subclínicos, estabelecendo o estado de portador ao animal. Já na anaplasnose, preconiza-se duas a quatro aplicações de subdoses de cloridrato de tetraciclina ($2-4\text{mg.kg}^{-1}$), pela via intramuscular de 21 em 21 dias. Esse período é estabelecido de acordo com o período de incubação da

doença e pode ser implementada a partir de 30 dias de idade do animal. As subdoses quimioterápicas permitirão ao animal adquirir a infecção sem sinais clínicos ou com sinais brandos (GONÇALVES, 2000).

A premunição constitui-se em um método de controle muito utilizado, com a finalidade de promover o desenvolvimento de imunidade contra as hemoparasitoses. O processo se fundamenta na inoculação de sangue de animal portador em animais susceptíveis e com seu subsequente tratamento usando fármacos específicos. Essa medida determina uma proteção à infecção, mesmo que ocorram variações entre amostras das espécies dos hemoparasitos e, em condições tropicais, é provavelmente o procedimento de imunização mais eficaz. Apesar de a premunição apresentar alto custo e vários riscos como a disseminação de doenças, estes são mínimos quando comparado àqueles ocasionados pela introdução de bovinos susceptíveis e não protegidos em áreas enzoóticas (LIMA, 1991).

Segundo Kessler (1987b), a premunição moderna consiste na utilização de inóculos padronizados de cada agente (*A. marginale*, *B. bigemina* e *B. bovis*), em geral congelados em nitrogênio líquido. Os inóculos são produzidos em bezerros esplenectomizados e o número de parasitos/ml de sangue é quantificado (10^5 a 10^7 hemácias parasitadas).

Após, a primeira inoculação, devem ser realizadas outras duas ou três inoculações, com a finalidade de reforçar a imunidade adquirida na inoculação anterior. Após a última inoculação, os animais devem ser infestados por carrapatos, para que os bovinos desenvolvam imunidade contra a amostra da propriedade. Esse procedimento torna-se necessário devido à existência de diversidade antigênica entre amostras no país (KESSLER et al., 1987a).

Diferentes métodos de vacinação têm sido desenvolvidos e estudados em condições de laboratório e de campo, como medidas imunoproláticas contra a babesiose bovina. Com o advento da tecnologia do DNA recombinante, vários trabalhos têm sido feitos para o desenvolvimento de uma nova geração de vacinas. Apesar de os trabalhos já realizados apresentarem sucesso limitado, muitos pesquisadores acreditam que a vacina ideal contra babesiose bovina só será produzida através da biotecnologia, seja através da clonagem de genes e expressão de proteínas recombinantes e/ou pela síntese bioquímica de polipeptídeos. (GONÇALVES, 2000).

Para a anaplasmose, existem três tipos de vacinas desenvolvidas, como a vacina atenuada que utiliza amostra de *A. marginale*. Experimentos realizados em vários países, inclusive no Brasil com a amostra atenuada, constataram que a imunidade conferida por esta vacina é capaz de diminuir as perdas econômicas causadas pela morbidade e/ou mortalidade após um desafio experimental ou natural com amostras virulentas de *Anaplasma* spp. Outro tipo de vacina é a inativada. Entretanto, no Brasil, não têm sido realizados estudos a respeito do emprego dessa vacina e não há autorização de sua comercialização pelas autoridades competentes. E, por último, a imunização através da espécie *A. centrale*, que causa infecção branda ao animal, podendo amenizar a severidade da infecção pelo *A. marginale*. *Anaplasma centrale* induz uma imunidade parcial contra *A. marginale* e vem sendo usada como vacina heteróloga, em função de sua menor patogenicidade. Este tipo de vacina está sendo usada em vários países. No Brasil, o Estado do Rio Grande do Sul, começou a utilizá-la após apoio técnico da EMBRAPA (GONÇALVES, 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAGEM

3.1.1 ANIMAIS

Fizeram parte do presente estudo 200 bovinos mestiços, todos Girolandos, de até um ano de idade, independente do sexo, criados no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ.

Os bovinos foram divididos em dois grupos, A e B, de 100 animais cada. Os animais da Região “A” foram compostos de bovinos oriundos das localidades: Rosal, Calheiros, Pirapitinga e Barra do Pirapitinga, distritos rurais que compõem a região alta do município, cuja altitude pode chegar a 477m e que faz divisa com Varre-Saí, Natividade, Itaperuna e com o Estado do Espírito Santo. Os animais da região “B” foram bovinos oriundos da região baixa (altitude não superior a 88 m) do município, representada pelas localidades: Mutum, Carabuçu e Serrinha, e que faz divisa com Campos dos Goytacazes, Itaperuna e com o Estado do Espírito Santo (Pranchas 1 e 2 do Anexo B).

O tamanho da amostra foi determinado, por conveniência e facilidade de acesso à propriedade, tomando como parâmetro a coleta de no mínimo um número maior ou igual a 0,1% da população total de bovinos do município (SOARES, 2000).

Dados do Instituto brasileiro de Geografia e Estatística, na seção Produção da Pecuária Municipal, 2005 traz o efetivo do rebanho bovino no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ que é composto por 62.000 animais (IBGE, 2006).

3.1.2 PROPRIEDADES RURAIS

Os 200 bovinos foram obtidos de dez propriedades rurais, sendo cinco da Região A e cinco da Região B. Em cada propriedade foram escolhidos, ao acaso, 20 animais para as coletas de material. Tais coletas foram realizadas no período de maio a setembro de 2008.

Informações relativas às propriedades rurais foram anotadas em questionário próprio, contendo perguntas de caráter zootécnico e sanitário.

3.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA

A avaliação clínica constou da observação clínica referente ao estado geral, seguida de aferição da temperatura retal após repouso, avaliação de mucosas visíveis, inspeção e palpação dos linfonodos superficiais e verificação da presença de carrapatos, e outras informações relevantes que foram registradas em ficha individual (anexo A).

3.3 PROCEDIMENTO DE COLETA

3.3.1 COLETA DE SANGUE TOTAL

Após a devida contenção física dos animais, tricotomia e antissepsia da região com álcool iodado procederam-se as coletas de cinco ml de sangue da veia jugular. Utilizou-se o sistema de coleta a vácuo com agulhas descartáveis 25 x 0,8 mm e tubos contendo ETDA 10% que foram acondicionados, em caixa isotérmica contendo gelo reciclável, para posterior realização do hemograma. O preenchimento dos tubos a vácuo, assim como a forma de acondicionamento e transporte foram realizados conforme recomendações preconizadas por Rebar et al. (2003) e Thrall et al. (2007).

3.3.2 ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO

Através dos capilares caudais e auriculares foram coletadas amostras de sangue para confecção de esfregaço sanguíneo periférico, visando à pesquisa de hemoparasitos tendo o cuidado de ser aproveitar a primeira gota. Sendo assim, foram feitos dois esfregaços, um da “ponta” da orelha e outro da extremidade caudal, conhecido popularmente no meio rural como “vassoura” da cauda. Os mesmos cuidados empregados na coleta de sangue total também foram utilizados nesta coleta de sangue periférico.

3.4 ANÁLISE LABORATORIAL

3.4.1 LOCAL

As análises laboratoriais foram realizadas no Setor de Patologia Clínica do Laboratório de Sanidade Animal situado no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro no município de Campos dos Goytacazes, RJ.

3.4.2 SANGUE TOTAL

As amostras de sangue total para a realização do hemograma foram processadas utilizando-se o contador hematológico de células MS4[®] (Melet Schloesing Laboratories, France), sendo avaliados: hematócrito, hematimetria, hemoglobinometria, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), leucometria global e plaquetometria. A determinação da leucometria específica foi realizada no esfregaço sangüíneo confeccionado com o sangue total colhido na jugular.

3.4.3 ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO

Os dois esfregaços sangüíneos (pavilhão auricular e extremidade caudal) de cada animal, devidamente identificados, foram corados com Panótico[®] e observados à microscopia óptica de imersão (1000X) para identificação dos hemoparasitos. Após a visualização do esfregaço sangüíneo, as amostras positivas foram registradas em planilha específica para cada região, também, foram registrados os valores positivo e negativo para cada parasito, além da ocorrência dos hemoparasitos diagnosticados em cada ponto anatômico da coleta, para posterior avaliação estatística.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a consolidação dos dados, foi feita análise estatística, onde o método de análise utilizado foi o da amostragem simples ao acaso em proporções ou

porcentagem no nível de 5% de significância. As comparações foram feitas considerando a sobreposição ou não dos intervalos de confiança (probabilidade de conter a proporção na população igual a 95%), após dimensionamento da amostra para uma população infinita de ocorrências, considerando $\alpha = 0,05$ e um desvio em torno da proporção amostral de 10% ($d = 0,10 * p$). O programa estatístico utilizado foi o SAEG 9.1(2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DIAGNÓSTICOS E FREQUÊNCIA DOS HEMOPARASITOS

O exame dos esfregaços sangüíneos de sangue periférico permitiu diagnosticar várias espécies de hemoparasitos em bovinos Girolandos, de até um ano de idade, no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ. Dos 200 animais avaliados, 99 bovinos (49,5%) apresentaram pelo menos um hemoparasito, os demais 101 bovinos (50,5%) foram considerados negativos (Figura 1).

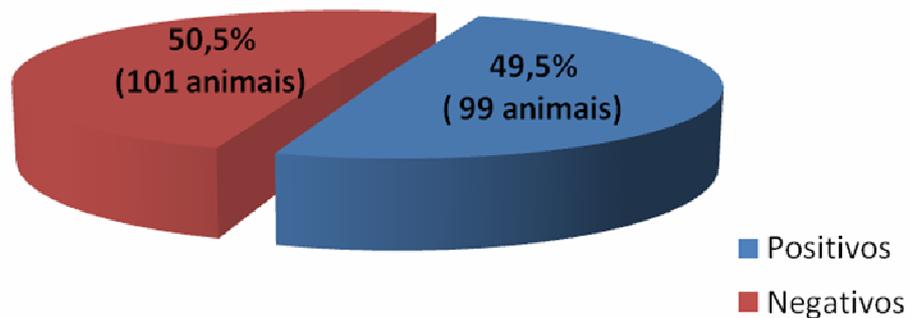


Figura 1. Número e frequência de bovinos Girolandos hemoparasitados no município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ, 2009.

Considerando o total de 200 animais avaliados, 99 bovinos apresentaram hemoparasitos, dos quais 53 (26,5%) estavam com microrganismos da espécie *Babesia bigemina*, 49 (24,5%) bovinos estavam com *Anaplasma marginale*, 11 (5,5%) bovinos com a espécie *Anaplasma bovis* e oito (4,0%) animais com a espécie *babesia bovis*. Tais espécies podem ser identificadas na figura 2, enquanto seus percentuais de ocorrência podem ser visualizados na figura 3.

Ao se verificar qualitativamente as espécies de hemoparasitos diagnosticadas no município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ e se comparar com o estudo realizado por Santos (2005) na microrregião de Campos dos Goytacazes-RJ, constata-se que

as mesmas espécies de hemoparasitas que ocorreram no município vizinho também ocorreram na região de Bom Jesus do Itabapoana-RJ, confirmando a presença de vetores em ambas as regiões.

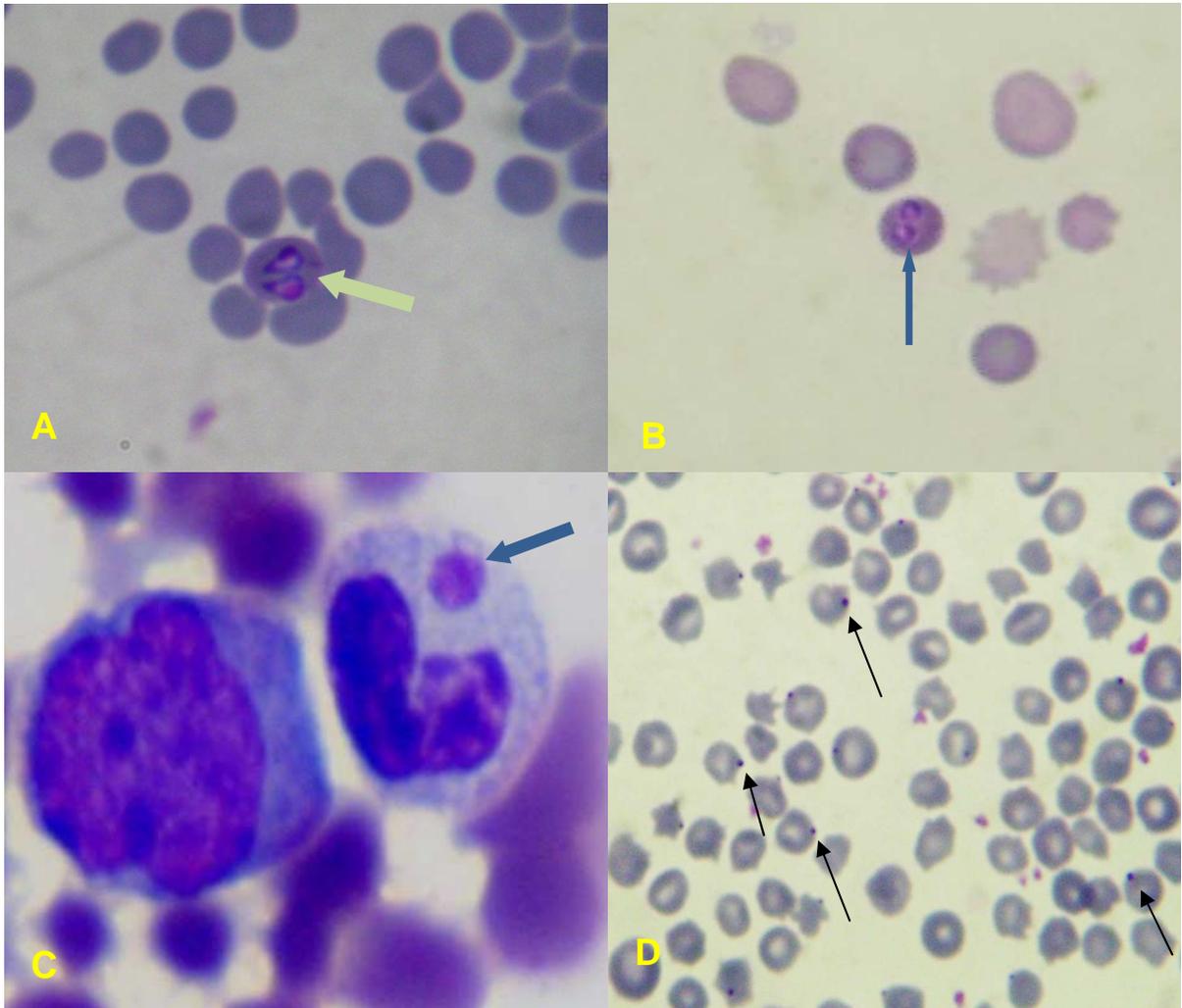


Figura 2. Fotomicrografias demonstrando espécies de hemoparasitos diagnosticados em esfregaço sanguíneo periférico de bovinos no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ, 2009. Hemácias parasitadas por *B. bigemina* (A) e *B. bovis* (B); Mononuclear contendo inclusão (mórula) de *A. bovis* (C); Hemácias parasitadas por *A. marginale* (D). Coloração Panótico, Aumento 1000 X, Zoom óptico 2,5 X.

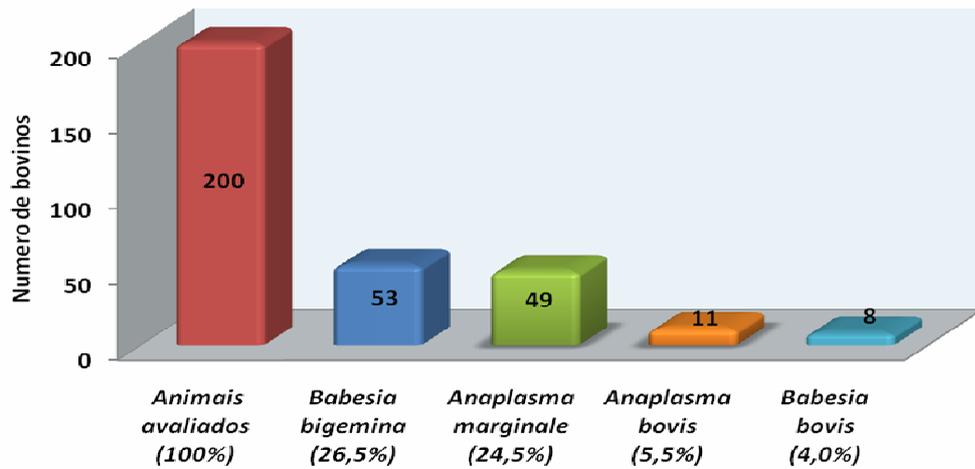


Figura 3. Percentual de cada espécie de hemoparasito, considerando o total de 200 bovinos avaliados no município de Bom Jesus do Itabapoana – RJ, 2009.

Ao se avaliar o gráfico da figura 3, nota-se que o somatório do número de bovinos das colunas dos hemoparasitas é superior ao valor encontrado de 99 animais positivos, isto indica que vários bovinos tiveram hemoparasitos ocorrendo de forma concomitante, conforme demonstrado na figura 4.

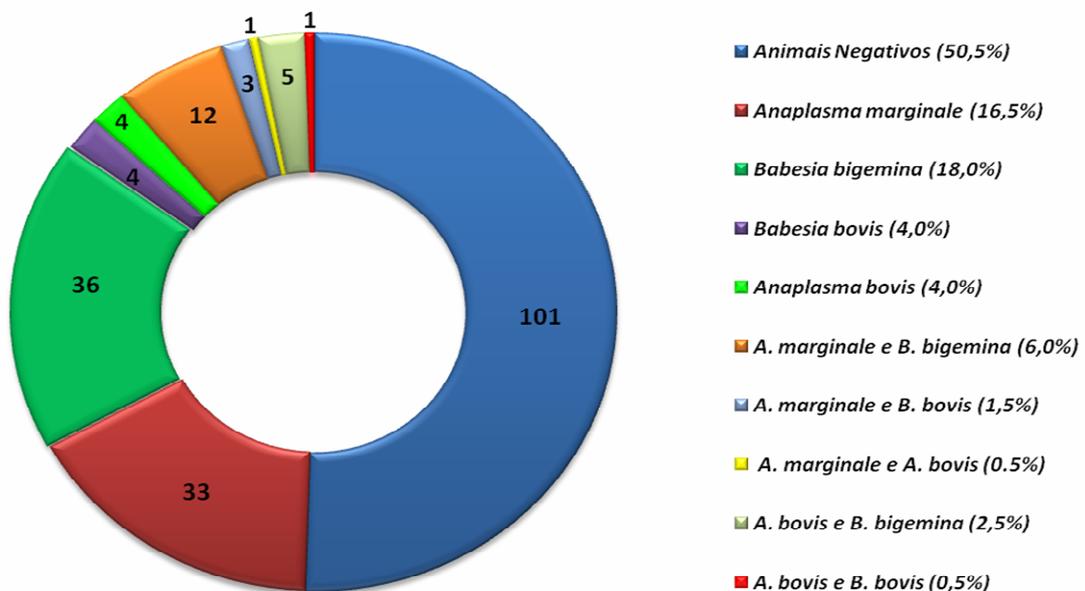


Figura 4. Número de animais e valores percentuais da ocorrência isolada e concomitante das espécies de hemoparasitos bovinos diagnosticados no município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ, 2009.

Ao se avaliar o gráfico da figura 4, verifica-se que 101 animais não apresentaram hemoparasitos e que os 99 bovinos com hemoparasitismo estão distribuídos conforme a forma de ocorrência das espécies, ou seja, isolada ou concomitante. Note-se nesta figura que ocorreram várias espécies de forma concomitante. Os casos onde houve associação de *A. marginale* e *Babesia* spp. (15 animais) permite-se diagnosticar o complexo Tristeza Parasitária Bovina (TPB), confirmando a teoria de Lima (1991), Gonçalves (2000) e Almeida et al. (2006) sobre os principais agentes etiológicos desta doença no Brasil.

Vários autores descrevem a ocorrência concomitante de hemoparasitos, conforme citado no parágrafo anterior, ainda no Brasil, Massard e Massard (1982) ao estudar a Eriquiiose bovina, diagnosticara o hemoparasito *E. bovis* (*A. bovis*), em associação com *B. bigemina*, *B. bovis* e/ou *A. marginale*, fato semelhante ao ocorrido neste trabalho, conforme demonstrado na figura 4, onde verifica-se a associação de *A. bovis* com *B. bigemina*, *B. bovis* e também com *A. marginale*.

4.2 OCORRÊNCIAS DO HEMOPARASITISMO QUANTO AS REGIÕES DO MUNICÍPIO E PONTO ANATÔMICO DE COLETA

4.2.1 REGIÕES

Os valores percentuais para a ocorrência de hemoparasitas foram $(49,5 \pm 4,91) \%$, $(48,0 \pm 6,94) \%$ e $(51 \pm 6,95) \%$, respectivamente, para o município, região alta e região baixa. As regiões podem ser vistas na figura 5.



Figura 5. Fotos das regiões alta (A) e baixa (B) do município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ. 2009.

Os intervalos listados anteriormente permitem verificar que a ocorrência de hemoparasitos na região alta é estatisticamente igual à região baixa e que ambas são estatisticamente iguais à ocorrência de todo o município (Figura 6).

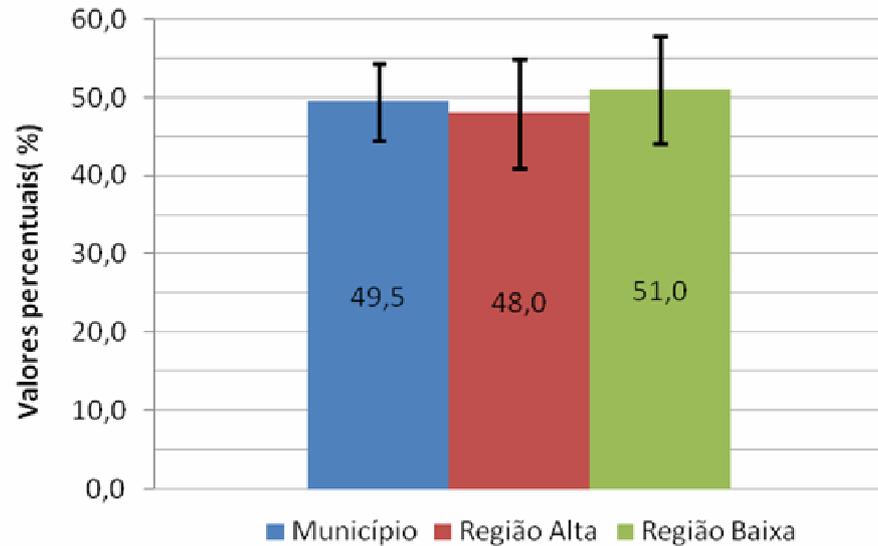


Figura 6. Ocorrência de hemoparasitos em bovinos Girolandos, relativo às regiões alta e baixa do município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ, 2009.

4.2.2 PONTO ANATÔMICO DE COLETA

Os valores percentuais para a ocorrência de hemoparasitas foram $(49,0 \pm 6,95)\%$ e $(49,5 \pm 6,94)\%$, respectivamente para pavilhão auricular e extremidade caudal (Figura 7). Logo, pode-se afirmar que a ocorrência do hemoparasito nas lâminas confeccionadas com sangue periférico coletado no pavilhão auricular é estatisticamente igual à ocorrência das lâminas oriundas da coleta na extremidade caudal (Figura 8).

Até o presente momento, não se encontrou um trabalho que avaliasse estatisticamente estes dois pontos anatômicos de coleta de sangue periférico para a pesquisa de hemoparasitos, Rodrigues et al. (2005) relatam que para o diagnóstico da *Babesia bovis* preferencialmente coleta-se sangue periférico da orelha ou da extremidade caudal dos bovinos.

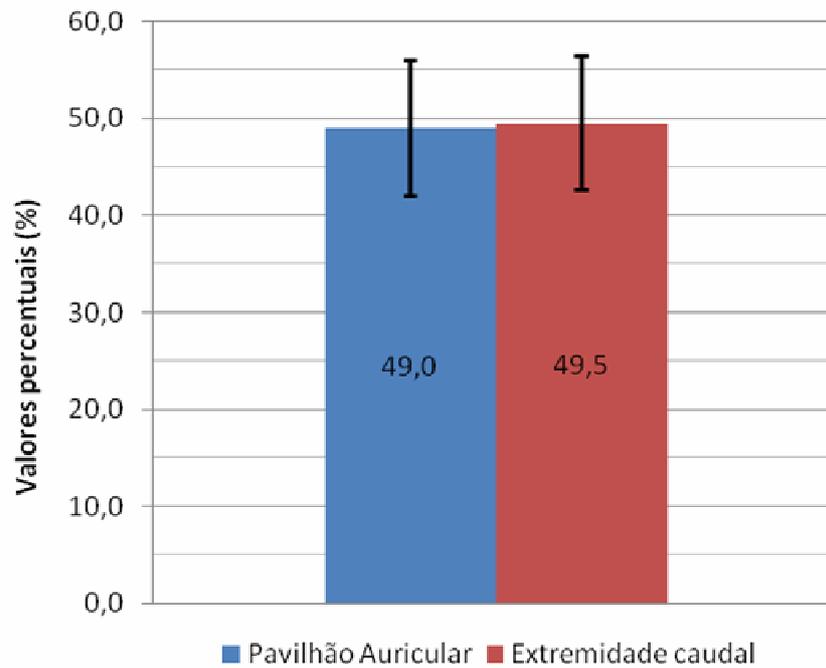


Figura 7. Ocorrência de hemoparasitos em relação ao ponto anatômico de coleta em bovinos Girolandos no município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ, 2009.



Figura 8. Fotos demonstrando a coleta de sangue periférico no pavilhão auricular (A) e na extremidade caudal (B), em bovinos girolandos no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ, 2009.

Em virtude da avaliação da ocorrência de hemoparasitos relativo às regiões do município e do ponto anatômico de coleta não apresentarem diferença estatística ($\alpha=0,05$), optou-se confrontar os dados para verificar se houve diferença estatística levando-se em consideração ponto anatômico x região. Obteve-se os intervalos de

confiança cujos valores percentuais para a ocorrência de hemoparasitos foram $(48,0 \pm 9,98)\%$, $(51,0 \pm 10,00)\%$, $(48,0 \pm 9,99)\%$ e $(51,1 \pm 10,00)\%$, respectivamente para pavilhão auricular/região alta, pavilhão auricular/região baixa, extremidade caudal/região alta e extremidade caudal/região baixa.

A ocorrência de hemoparasitos no material colhido no pavilhão auricular dos bovinos da região alta é estatisticamente igual à ocorrência do material colhido no pavilhão auricular dos bovinos da região baixa. Fato semelhante, também ocorreu com os materiais colhidos na extremidade caudal dos bovinos da região alta e baixa, ou seja, ambos também são estatisticamente iguais ($\alpha = 0,05$) conforme demonstrado na figura 9.

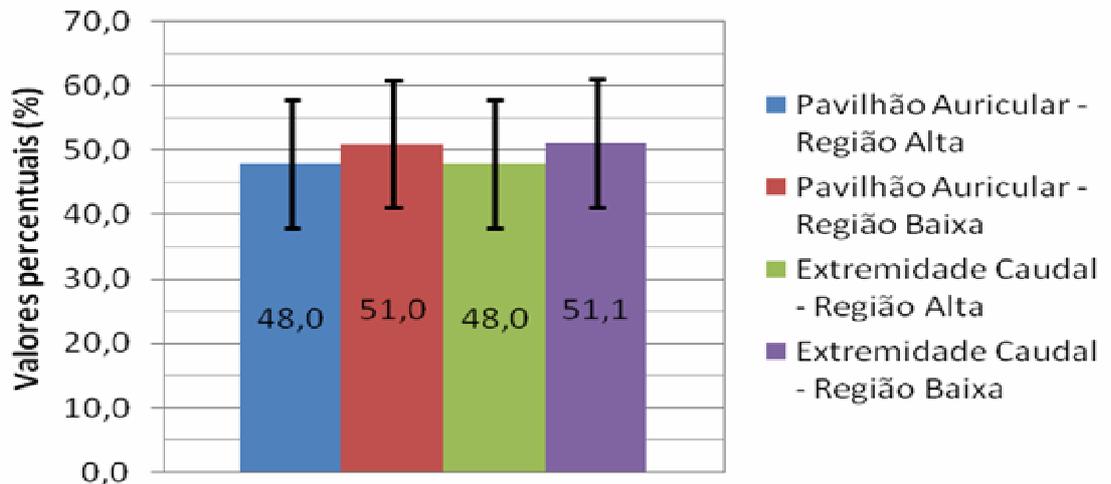


Figura 9. Ocorrência de hemoparasitos em bovinos Girolandos em relação ao ponto anatômico x regiões do município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ, 2009.

Levando-se em consideração, a facilidade de execução, os baixos custos envolvidos e a boa fidedignidade (conforme observado nos trabalhos desenvolvidos por MASSARD, 1984 e SANTOS, 2005), o exame microscópico direto do esfregaço sanguíneo periférico é uma boa ferramenta de diagnóstico para uma amostra populacional do rebanho bovino. Devido à ocorrência de hemoparasitos ser estatisticamente igual nos dois pontos anatômicos de coleta, conforme visto anteriormente e por questões de manejo sugere-se que a coleta seja feita na extremidade caudal, minimizando os possíveis riscos de acidente durante o manuseio dos animais, principalmente se forem adultos.

4.3 ALTERAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS OBSERVADAS

4.3.1 ALTERAÇÕES CLÍNICAS

As alterações clínicas observadas nas hemoparasitoses bovinas diagnosticadas na região de Bom Jesus do Itabapoana-RJ, foram semelhantes às relatadas nas diversas regiões do Brasil (Tabela 1).

Tabela 1 – Alterações clínicas, número de animais e porcentagem das alterações observadas nas hemoparasitoses bovinas diagnosticadas no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ – 2009.

ALTERAÇÕES CLÍNICAS			
	Itens avaliados	n	%
ANAPLASMOSE (<i>Anaplasma marginale</i>) n = 49	Magreza	14	28,5
	Mucosas hipocoradas	30	61,2
	Pelos eriçados	20	40,8
	Presença de carrapatos	20	40,8
	Pirexia	15	30,6
ALTERAÇÕES CLÍNICAS			
	Itens avaliados	n	%
BABESIOSE (<i>Babesia</i> spp.) n = 61	Magreza	17	27,8
	Mucosas hipocoradas	29	47,5
	Pelos eriçados	32	52,4
	Presença de carrapatos	30	49,1
	Pirexia	10	16,3
ALTERAÇÕES CLÍNICAS			
	Itens avaliados	n	%
ERLIQUIOSE (<i>Anaplasma bovis</i>) n = 11	Linfoadenomegalia pré-escapular	04	36,3
	Magreza	03	27,2
	Mucosas hipocoradas	06	54,5
	Pelos eriçados	04	36,3
	Presença de carrapatos	06	54,5
	Pirexia	03	27,2
ALTERAÇÕES CLÍNICAS			
	Itens avaliados	n	%
TPB (<i>Anaplasma marginale</i> e <i>Babesia</i> spp.) n = 15	Magreza	05	33,3
	Mucosas hipocoradas	07	46,6
	Pelos eriçados	06	40,0
	Presença de carrapatos	04	26,6
	Pirexia	04	26,6

Note-se que nos animais onde se diagnosticou Babesiose (*B. bigemina* e *B. bovis*) e Anaplasmosse (*A. marginale*) os bovinos apresentaram comumente carrapatos, mucosas hipocoradas, pirexia, pelos eriçados e magreza, alterações

também relatadas por Nascimento et al. (1981); Everitt et al. (1986); Farias (1995) e Farias (2001).

Com relação aos bovinos onde se diagnosticou Erliquiose (*A. bovis*) as alterações clínicas comumente observadas, além da presença de carrapatos, foram mucosas hipocoradas, pirexia, pelos eriçados e linfadenomegalia pré-escapular, tais alterações foram as mesmas encontradas por Donatien e Lestoquard (1936), Girard e Rosselot (1945), Massard (1984), Sreekumar et al. (2000) e Santos (2005).



Figura 10. Fotos demonstrando bovinos com magreza (A) e pelos eriçados (B), alterações clínicas das hemoparasitoses observadas nos animais do município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ. 2009.

4.3.2 ALTERAÇÕES LABORATORIAIS

As alterações laboratoriais observadas para os hemoparasitos obrigatoriamente intra-eritrocitários foram leucocitose, neutrofilia com desvio nuclear de neutrófilos à esquerda, linfocitose, monocitose e anemia, esta última também relatada por Everitt et al. (1986); Farias (1995) e Farias (2001). As alterações laboratoriais, número de animais e percentual de cada alteração podem ser visualizados na tabela 2, enquanto que os dados hematológicos dos bovinos com hemoparasitoses estão listados nas tabelas do anexo C.

Tabela 2 – Alterações laboratoriais, número de animais e porcentagem das alterações observadas nas hemoparasitoses bovinas diagnosticadas no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ – 2009.

ALTERAÇÕES LABORATORIAIS			
	Itens avaliados	n	%
ANAPLASMOSE <i>(Anaplasma marginale)</i> n = 49	Anemia	30	61,2
	Leucocitose	23	46,9
	Neutrofilia	15	30,6
	Desvio à esquerda	9	18,3
	Linfocitose	33	67,3
	Monocitose	26	53,0
	Eritrofagocitose	15	30,6
	Monócitos vacuolados	17	34,6
ALTERAÇÕES LABORATORIAIS			
	Itens avaliados	n	%
BABESIOSE <i>(Babesia spp.)</i> n = 61	Anemia	23	37,7
	Leucocitose	38	62,2
	Neutrofilia	19	31,1
	Desvio à esquerda	05	8,1
	Linfocitose	39	63,9
	Monocitose	37	60,6
	Eritrofagocitose	13	21,3
	Monócitos vacuolados	14	23,0
ALTERAÇÕES LABORATORIAIS			
	Itens avaliados	n	%
ERLIQUIOSE <i>(Anaplasma bovis)</i> n = 11	Anemia	03	27,2
	Leucocitose	05	45,5
	Neutrofilia	02	18,1
	Desvio à esquerda	02	18,1
	Linfocitose	04	36,3
	Monocitose	05	45,4
	Monócitos vacuolados	05	45,4
	ALTERAÇÕES LABORATORIAIS		
	Itens avaliados	n	%
TPB <i>(Anaplasma marginale e Babesia spp.)</i> n = 15	Anemia	07	46,6
	Leucocitose	08	53,3
	Neutrofilia	03	20,0
	Desvio à esquerda	03	20,0
	Linfocitose	09	60,0
	Monocitose	09	60,0
	Eritrofagocitose	04	26,6
	Monócitos vacuolados	05	33,3

Nos animais com Eriiquiose (*A. bovis*), as alterações laboratoriais que incluem monocitose, linfocitose, monócitos com citoplasma vacuolados, estão de acordo com as observações de Girard e Rousselot (1945), Massard (1984) e Santos (2005);

anemia e neutrofilia com desvio nuclear de neutrófilos à esquerda que estão de acordo com Santos (2005).

Note-se na tabela 2 elevado percentual para monócitos vacuolados e eritrofagocitose, principalmente na anaplasnose, babesiose e TPB (Figuras 11 e 12). Tais achados hematoscópicos explicam o elevado percentual de monócitos (monocitose). Estas células, segundo Thrall et al (2007) participam na remoção de hemácias em vários órgãos nos animais com anemia hemolítica. Destes achados, o mais relevante foi a eritrofagocitose, pois Thrall et al. (2007) afirmaram que tal achado raramente é encontrado em esfregaço sanguíneo. Entretanto, neste trabalho notou-se o contrário, pois houve elevada freqüência de eritrofagocitose nos animais com anaplasnose (30,6%), babesiose (21,3%) e TPB (26,6%). Na mesma tabela, pode-se observar que a anemia foi mais acentuada nos animais com anaplasnose, tal fato ocorre na fase aguda, com evolução da doença, onde surgem os auto-anticorpos que aderem à superfície dos eritrócitos infectados e não infectados, aumentando a fagocitose das hemácias por macrófagos, (RISTIC, 1960; GONÇALVES, 2000; THRALL et al., 2007).

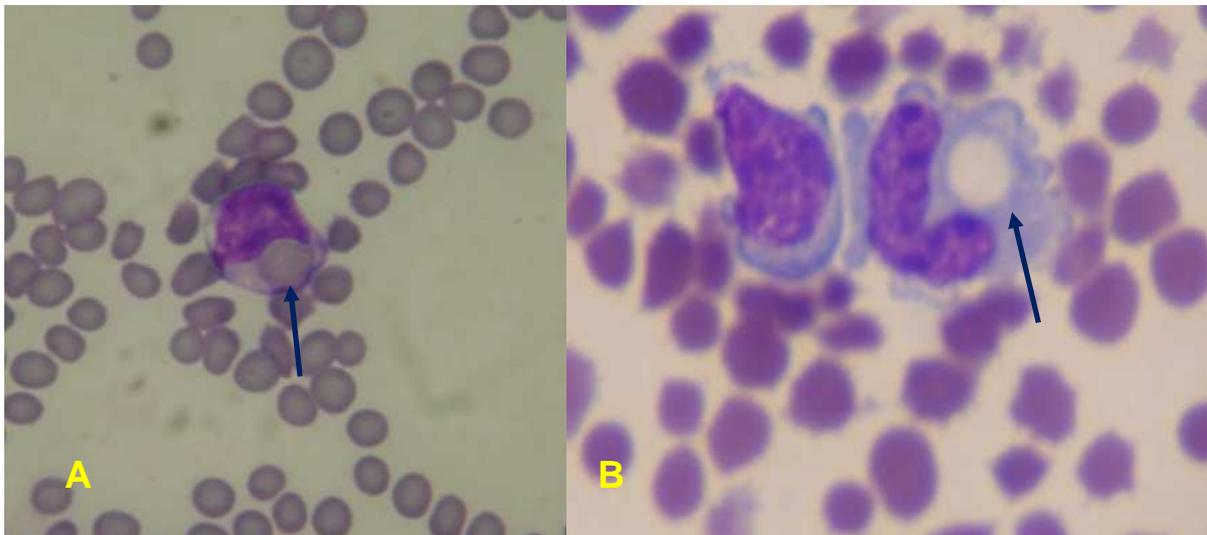


Figura 11. Fotos demonstrando eritrofagocitose (A) e monócitos vacuolados (B), achados hematoscópicos relevantes encontrados nas hemoparasitoses bovinas no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ. 2009. Aumento 1000 X, coloração panótico.



Figura 12. Foto demonstrando eritrofagocitose. Aumento 1000 X, coloração panótico. Nesta figura, percebe-se a hemácia fagocitada pelo monócito e no interior da mesma a presença de *Babesia* spp. (seta). Achado hematoscópico encontrado nas hemoparasitoses bovinas no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ. 2009.

4.4 DADOS DAS PROPRIEDADES RURAIS

Foram visitadas 10 propriedades rurais, sendo 05 na região alta e 05 na região baixa do município, todas com assistência veterinária. O sistema de criação foi o mesmo em todas, ou seja, os rebanhos são criados de forma semi-extensiva, o sistema de produção predominante foi o familiar, praticado em 07 propriedades (70%), as demais eram do tipo empresarial. Os demais dados relativos às propriedades rurais, estão relacionados na tabela 3.

No controle de carrapatos, todas as propriedades avaliadas utilizavam produtos carrapaticidas, mas na maioria destas notou-se que não havia um critério predefinido de calendário de aplicação, percentual de animais em que o produto seria utilizado e critérios de aplicação dos princípios ativos utilizados, dados semelhantes ao encontrado por Santos (2005), tais fatos revelam certo perigo de que venha a ocorrer resistência aos carrapaticidas. Percebeu-se também que está

havendo mudança no tipo de produto utilizado, ou seja, estão trocando e ou combinando produtos alopatas com homeopatas para o controle de carrapatos e demais ectoparasitas.

Tabela 3. Características das propriedades rurais das regiões alta e baixa do município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ, 2009.

Itens	Características das Propriedades Rurais Avaliadas	
	Região Alta (n = 5)	Região Baixa (n = 5)
Tamanho Médio (hectares)	149	85
Sistema de Criação	Semi-extensivo	Semi-extensivo
Sistema de Produção	Familiar (60%)	Familiar (80%)
Época da coleta do material	Maio a setembro/08	Maio a setembro/08
Raça predominante	Mestiço (Girolando)	Mestiço (Girolando)
Assistência veterinária	Todas possuíam	Todas possuíam
Uso produtos carrapaticidas	Todas utilizaram	Todas utilizaram

Farias (2001) advertiu que o histórico de resistência aos carrapaticidas deixa claro que as drogas utilizadas se mantêm eficazes no controle do carrapato, somente, durante o período necessário para a seleção de populações resistentes, concluindo que, enquanto não houver uma consciência de técnicos e de produtores, através da utilização coerente, aliada a outras medidas de controle do carrapato, tais fatos deverão se repetir, ou seja, surge a resistência, a indústria cria novos produtos carrapaticidas e, passado algum tempo, têm-se novas cepas resistentes a esses novos produtos, do mesmo modo, espera-se da indústria o lançamento de uma nova droga.

5 CONCLUSÕES

Os hemoparasitos: *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma bovis*, ocorrem com elevada frequência no rebanho bovino do município de Bom Jesus do Itabapoana-RJ.

As principais alterações clínico-laboratoriais foram mucosas hipocoradas, pirexia, alterações do estado geral do animal, anemia, leucocitose, neutrofilia com desvio nuclear de neutrófilos à esquerda, linfocitose e monocitose.

Os achados hematoscópicos mais relevantes das alterações laboratoriais nos bovinos parasitados por *Babesia* spp. e *Anaplasma marginale* foram eritrofagocitose e monócitos vacuolados.

As coletas de sangue, no pavilhão auricular e na extremidade caudal de bovinos, são ideais para pesquisa de hemoparasitas.

Há necessidade de outros estudos clínico-laboratoriais a cerca do tema em questão.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.B. de; TORTELLI, F.P.; RIET-CORREA, B.; et al. Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-2005. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.26, n.4, p.237-242, **out./dez.** 2006
- ANDRADE, G. M. Estudo sobre a prevalência e infecção natural por *Anaplasma marginale* em bovino da raça holandesa na região de Londrina - PR. Londrina, 1998. 38p. *Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal)* - Curso de Mestrado em Sanidade Animal, Universidade Estadual de Londrina, 1998.
- BROWN, C.G.D. Dynamics and impact of tick-borne diseases of cattle. *Tropical Animal Health and Production*. v. 29, n. 4, p.15-35. 1997.
- CAEIRO, V. Reflexão sobre a taxonomia actual dos *Ixodidae*. A sistemática morfológica versus sistemática molecular - o género *Rhipicephalus* e o género *Boophilus*. Artigo de Opinião. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.101, n.557-558,p.37-39, 2006.
- CONNEL, M.; HALL, W.T.K. Transmission of *Anaplasma marginale* by the cattle tick *Boophilus microplus*. *Australian Veterinary Journal*, v.48, p.477, 1972.
- CORREA, W.M.; CORREA, C.N.M. *Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos*. 2ª Edição. Editora Medsi, Rio de Janeiro, 843p., 1992.
- CORRIER D.E.; GUZMAN S. The effect of natural exposure to *Anaplasma* and *Babesia* infections on native calves in an endemic area of Colombia. *Tropical Animal Health and Production*, v. 9, n. 1, p. 47-51, 1977.
- DALGLIESH, R.J.; JORGENSEN, W.K.; de VOS, J. Australian frozen vaccines for the control of babesiosis and anaplasmosis in cattle - review. *Tropical Animal Health Production* v.22, p.44-52, 1990.

DE VOS, A.J. Distribution, economic importance and control measures for *Babesia* and *Anaplasma*. In: WORKSHOP ILRAD, Nairobi, Kenya, 1991. *Proceedings...* T.T. Dolan (Editor), 312 p. p. 3-15, 1992.

DUMLER, J.S.; BARBET, A.F.; BEKKER, C.P.J.; et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, n.51, p. 2145-2165, 2001.

ERICKS, I.S.; PALMER, G.H.; MCGUIRRE, T.C.; et al. Detection and quantitation of *Anaplasma marginale* in carrier cattle by using a nucleic acid probe. *Journal Clinical Microbiology*, v. 27, p. 279-284, 1989.

EVERITT, J.I.; SHADDUCK, J.A.; STEINKAMP, C.; et al. Experimental *Babesia bovis* infection in Holstein calves. *Veterinary Pathology*, v.23, p.556-562, 1986.

FARIAS, N.A. da R. Diagnóstico e controle da tristeza parasitária bovina. Guaíba, *Porto Alegre: Agropecuária*, 80p. 1995.

FARIAS, N.A. Tristeza parasitária bovina. In: RIET-CORREA, F., SCHILD, A. L., MÉNDEZ, M.D.C., LEMOS, R.A.A. *Doenças de ruminantes e eqüinos*. Editora Varela, São Paulo, p.35-42. 2001.

FINELE, P. Rickettsiose à *Rickettsia bovis* en Oubanghi-chari. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. n.11, p. 291-292., 1958.

GIRARD, H.; ROSSELOT, R. La Rickettsiose bovine a *Rickettsia bovis* au Sudan Français. *Bulletin de la Société Pathologie Exotique*. n.38, p.64-77., 1945.

GOETHERT, H.K., TELFORD, S.R. Enzootic transmission of *Anaplasma bovis* in Nantucket Cottontail Rabbits. *Journal of Clinical Microbiology*, v.41, n.8, p. 3744-3747, 2003.

GONÇALVES, P.M., Epidemiologia e Controle da Tristeza Parasitária Bovina na Região Sudeste do Brasil. Revião Bibliográfica. *Ciência Rural*, v. 30, n.1, p.187-194, 2000.

GRISI, L.; MASSARD, C.L.; BORJA, E.M.; et al. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, Porto Alegre, n.21, p.8-10. 2002.

GUGLIELMONE, A. Epidemiologia y prevencion de los Hemoparasitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en la Argentina. In: NARI, A.; FIEL, C. *Enfermedades parasitarias de importancia econômica en bovinos*. Montevideo, Uruguay : Hemisferio Sur, Cap.23, p.460-479, 1994.

HUNGERFORD L.L.; SMITH R.D. Variations in seroprevalence and host factors for bovine anaplasmosis in Illinois. *Veterinary Research Community*., v.21, n. 1, p. 9-18, 1997.

IBGE, Produção da Pecuária Municipal 2005; Malha municipal digital do Brasil: situação em 2005. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidades>>. Acesso em 13 junho de 2007.

JAIN, N. C. *Essentials of Veterinary Hematology*. 4ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 417p, 1993.

JAMES, M.A.; CORONADO, A.; LOPEZ, W.; et al. Seroepidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Venezuela. *Tropical Animal Health and Production*. v.17, p.9-18, 1985.

KESSLER, R.H.; MADRUGA, C.R.; De JESUS, E.F.; et al. Isolamento de cepas puras de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em área enzoótica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 22, n.7, p. 747-752, 1987a.

KESSLER, R.H.; SACCO, A.M.S.; De JESUS, E.F.; et al. Desenvolvimento de cepas vivas atenuadas de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*: Teste preliminar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 22, n.11-12, p. 1225-1230, 1987b.

KESSLER R.H.; SCHENK M.A.M. Diagnóstico parasitológico da tristeza parasitária bovina. In: KESSLER R.H.; SCHENK M.A.M. (ed.) *Carrapato, Tristeza Parasitária e Tripanossomose dos Bovinos*. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. p. 81-90, 1998.

KREIER, J.P., GOTHE, R., IHLER, G.M., et al. The hemotrophic bacteria: The Families Bartonellaceae and Anaplasmataceae. In: BALOWS, A., TRUPER, H.G., DOWORKIN, M., et al. *The Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*. 2. ed. New York : Springer-Verlag, Cap.225, p.3994-4022, 1991.

LIMA, J.D. Premunção: uma alternativa para o controle da tristeza parasitária, São Paulo, SP, 1991. In: *Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária*. São Paulo, 22-26 de setembro, 1991. Anais... São Paulo, 156p. p. 39-43, 1991.

MACHADO, R.Z. Erliquiose canina, *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v.13, p. 53-57, 2004.

MADRUGA, C.R.; GOMES, R.F.; SCHENK, M.A.M. Etiologia de algumas doenças de bezerros de corte no estado de Mato Grosso do Sul. Campo Grande, MS : Embrapa-CNPGC. 27p. (*Circular Técnica*, 15), 1984.

MARTINS, J.R.; CORRÊA, B.L. Babesiose e anaplasmosse bovina: aspectos destas enfermidades. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, Porto Alegre, v.1, n.1, p.51-58,1995.

MASSARD, C. de A.; MASSARD, C.L. *Ehrlichia bovis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) em Gado de Leite no Brasil. *Arquivo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*. v.5, n.2, p.237-239, 1982.

MASSARD, C. de A. *Ehrlichia bovis* (Donatien & Lestoquard, 1936) Diagnóstico, Cultivo “in vitro” e Aspectos Epidemiológicos em Bovinos no Brasil. *Tese de Doutorado* – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 113p.,1984.

NASCIMENTO, M.D. Do; PINHEIRO, J.G.; RIBEIRO, M.F.B. Alterações do quadro eritrocitário e sideremia de bezerros portadores de anaplasnose. Niterói, RJ : Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro, p.1-2. (*Comunicado Técnico PESAGRO-RIO, 97*) 1981.

NORTON, J.H.; PARKER, R.J.; FORBES-FAULKNER, J.C. Neonatal anaplasmosis in calf. *Australian Veterinary Journal*, v.16, n.11, p.348, 1983.

OLIVEIRA, P.R. Controle estratégico do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) em bovinos de propriedades rurais dos municípios de Lavras e Entre Rios de Minas-MG. Belo Horizonte – MG, 1993. 97p. *Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)* - Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1993.

OOSHIRO, M.; ZAKIMI, S.; MATSUKAWA, Y. et al. Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* from cattle on Yonaguni Island, Okinawa, Japan. Short Communication. *Veterinary parasitology*. v. 154, p. 360-364, 2008.

PALMER, G.H.; BARBET, A.F.; DAVIS, W.C., et al. Immunization with an isolate-common surface protein protects cattle against anaplasmosis. *Science Magazine*, v.231, p.1299-1302, 1986.

PALMER, G.H. Anaplasma vaccines. In: WRIGHT, I.G. *Veterinary protozoan and hemoparasite vaccines*. Boca Raton, Flórida : CR,. Cap.1, p.1-29. ,1989.

REBAR, A. H.; MACWILLIAMS, P. S.; FELDMAN, B. F.; et al. *Guia de Hematologia para Cães e Gatos*. São Paulo-SP: Editora Roca, 291p., 2003.

RIBEIRO, M.F.B.; SALCEDO, J.H.P.; SANTOS, J.L; et al. Inquérito de opinião com criadores da Zona da Mata do estado de Minas Gerais: I. Alguns fatores associados com mortalidade de bezerros. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v.35, p.547-556, 1983.

RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D.; GUIMARÃES, A.M; et al. Transmissão congênita da anaplasmosse bovina. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v.47, p.297-304, 1995.

RIKIHISA, Y. The Tribe *Ehrlichiae* and Ehrlichial Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, n.4, p. 286-308, 1991.

RISTIC, M. Anaplasmosis. *Advances in Veterinary Science.*, v. 7, p. 111-192, 1960.

RISTIC, M., MONTENEGRO-JAMES, S. Immunization against *Babesia*. In: RISTIC, M. *Babesiosis of domestic animals and man*. New York: CRC, p.131-142. 1988.

RODRIGUES, A.; RECH, R.R.; BARROS, R.R.; et al. Babesiose Cerebral em Bovinos: 20 casos. *Ciência Rural*, v.35, n.1, p.121-125, 2005.

SAEG - Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANTANA, A.P.; LINHARES, G.F.C; MURATA, L.S. et al. Dinâmica da infecção natural por *Babesia bigemina* em bezerros a partir do nascimento detectado pela reação em cadeia da polimerase. *Revista Ciência Animal Brasileira*, v.9, n.3, p.721-730, 2008.

SANTOS, C.F. Ocorrência e Diagnóstico Clínico-Laboratorial de *Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1936) Dumler *et al.* (2001) na Microrregião de Campos dos Goytacazes-RJ. *Dissertação (Mestrado em Produção Animal)*. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 30 f., 2005.

SANTOS, C.F.; CARVALHO, C.B. Primeiro Relato de *Anaplasma bovis* (DONATIEN E LESTOQUARD, 1936) DUMLER et al. (2001) na microrregião de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Nota de Pesquisa. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.15, n.3, p.126-127, 2006.

SOARES, C.O.; SOUZA, J.C.P.; MADRUGA, C.R.; et al. Soroprevalência de *Babesia bovis* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.20, n.2, p.75-79, 2000.

SOLARI, M.A.; QUINTANA, S. Epidemiologia y Prevencion de los Hemoparasitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en el Uruguay. In: NARI, A.; FIEL, C. *Enfermedades parasitarias de importancia econômica en bovinos*. Montevideo, Uruguay : Hemisferio Sur. Cap.24, p.481-507, 1994.

SOUZA, J.C.P.; SOARES, C.O.; MASSARD, C.L.; et al. Soroprevalência de *Anaplasma marginale* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.20, n.3, p.97-101, 2000a.

SOUZA, J.C.P.; SOARES, C.O.; SCOFIELD, A.; et al. Soroprevalência de *Babesia bigemina* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.20, n.1, p.26-30, 2000b.

SREEKUMAR, C.; ANANDAN, R.; BALASUNDARAM, S.; et al. Detection of an *Ehrlichia bovis* – like Organism in Cultured Buffalo Monocytes. *Tropical Animal Health and Production*, v.32, p.67-72, 2000.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. A importância da anaplasmosose em nossos bezerros e as medidas de seu controle. *Veterinária*, v.15, n.3-4, p.11-19, 1962.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; et al. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. Editora Roca, São Paulo, 582p., 2007.

VIDOTO, O.; MARANA, E.R.M. Diagnóstico em Anaplasmosose Bovina. Revisão de Literatura. *Ciência Animal*, v.31, n.2, p.361-368, 2001.

ZAUGG, J.L. Bovine anaplasmosis: transplacental transmission as it relates to stage of gestation. *American Journal Veterinary Research.*, v.46, n.3, p.570-572, 1985.

ANEXOS

ANEXO A

FICHA CLÍNICA INDIVIDUAL Nº _____

1- Identificação do animal

1.1- Nome: _____ Data: ____/____/____

1.2- Idade (meses): 1-4 5-8 9-12

1.3- Raça: _____ Sexo _____

1.4- Procedência:

Propriedade Vizinhança outro distrito/município/estado

Qual? _____

2- Dados clínicos:

2.1- Estado geral do animal: Excelente Bom Ruim 2.2- Escore corporal: Muito magro Magro Normal Gordo

2.3- Temperatura corporal _____ °C.

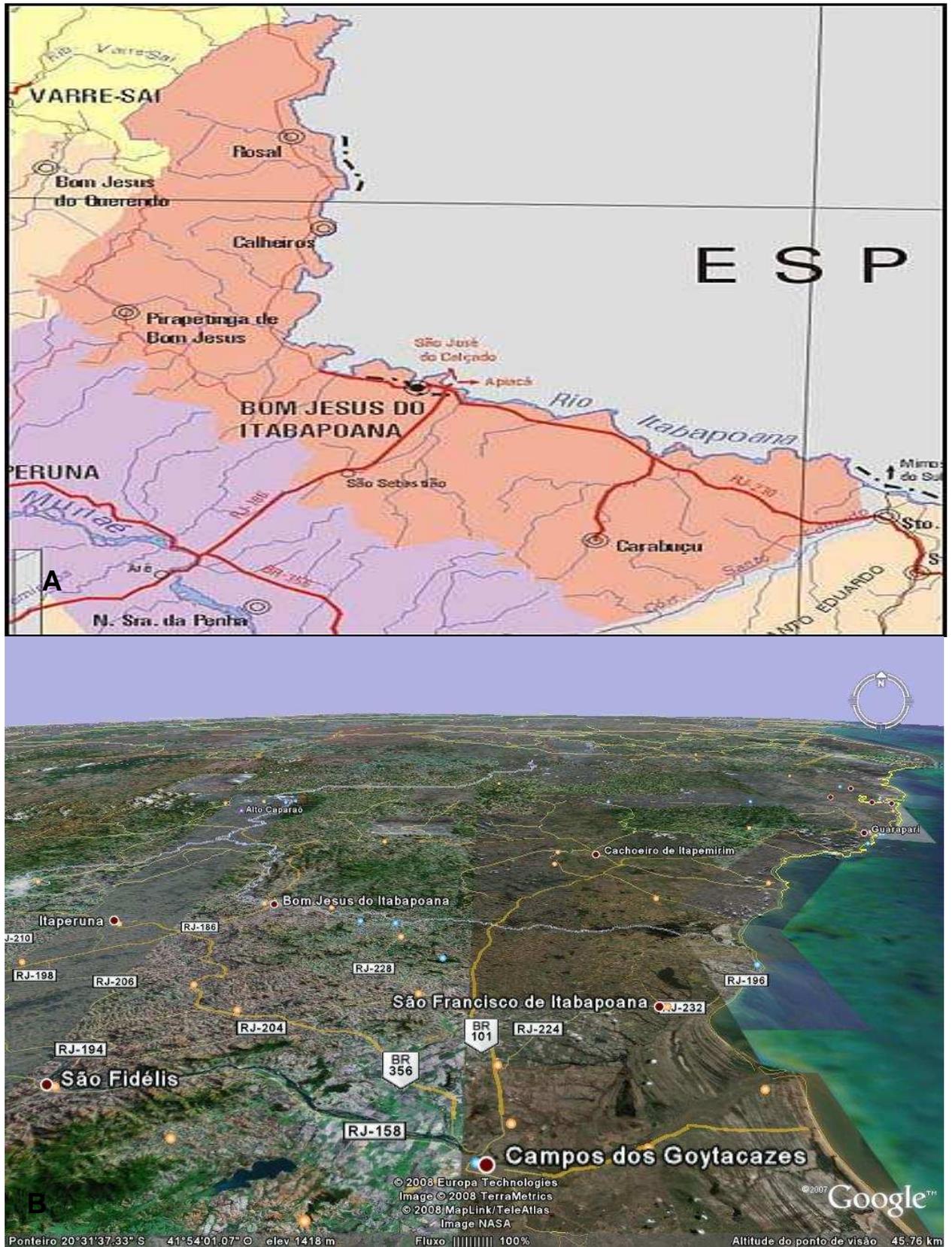
2.4- Mucosas visíveis: Normocoradas Hipocoradas 2.5- Linfonodos aumentados de tamanho? Sim Não

Quais? _____

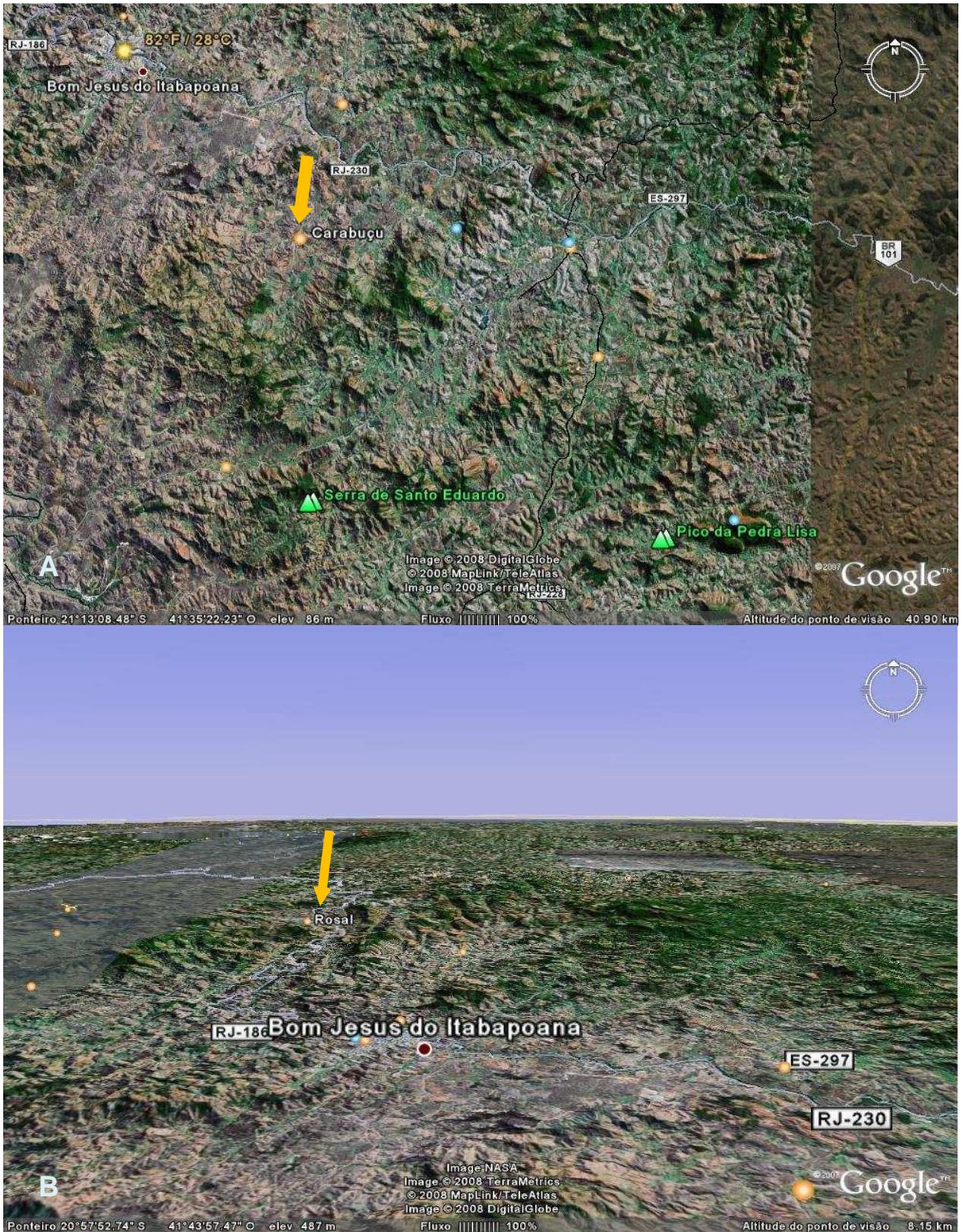
2.6- Pelos eriçados? Sim Não 2.7- Presença de carrapatos? Sim Não 2.8- Sintomatologia compatível com hemoparasitoses? Sim Não

3- Outras informações relevantes encontradas no exame clínico:

ANEXO B - PRANCHAS



PRANCHA 1: Localização de Bom Jesus do Itabapoana, RJ e municípios limítrofes. Mapas demonstrando os principais distritos rurais (A) e localização do município e cidades vizinhas(B). Fontes: GoogleEarth™ e www.bomjesus.rj.gov.br



PRANCHA 2: Imagem da localização das Regiões Baixa (A) e Alta (B) de Bom Jesus do Itabapoana, RJ. Fonte: Google Earth™.

ANEXO C - TABELAS

Tabela A – Valores hematológicos normais na espécie bovina segundo Jain (1993).

ERITROGRAMA	
Índices	Valores normais
Eritrócitos (x 10 ⁶ / µl)	5,5 - 10,0
Hematócrito / VG (%)	24 - 46
Hemoglobina (g/dl)	8,0 - 15,0
VCM (fl)	40 - 60
CHCM (%)	30 - 36
LEUCOGRAMA	
Índices	Valores normais
Leucometria Global (x 10 ³ / µl)	4,0 - 12,0
Leucometria Específica/Valores Absolutos(/ µl)	
Basófilos	0 - 200
Eosinófilos	0 - 2400
Neutrófilos	
Bastões	0 - 120
Segmentados	600 - 4000
Linfócitos	2500 - 7500
Monócitos	25 - 840
PLAQUETOMETRIA	
Índices	Valores normais
Plaquetas (x 10 ³ / µl)	100 - 800

Tabela B – Média e desvio padrão dos valores hematológicos obtidos dos bovinos girolandos naturalmente infectados por *Anaplasma marginale* no município de Bom Jesus do Itabapoana,RJ – 2009.

ERITROGRAMA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Eritrócitos (x 10 ⁶ / µl)	5,3 ± 1,6
Hematócrito / VG (%)	22,4 ± 5,6
Hemoglobina (g/dl)	6,8 ± 1,9
VCM (fl)	43,4 ± 8,1
CHCM (%)	30,0 ± 1,8
LEUCOGRAMA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Leucometria Global (x 10 ³ / µl)	13,5 ± 4,9
Leucometria Específica/Valores Absolutos(/ µl)	
Basófilos	0,0 ± 0,0
Eosinófilos	233,2 ± 179,2
Neutrófilos	
Bastões	59,8 ± 95,3
Segmentados	3828,7 ± 3386,3
Linfócitos	8300,7 ± 2558,7
Monócitos	1163,3 ± 921,6
PLAQUETOMETRIA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Plaquetas (x 10 ³ / µl)	325,5 ± 111,2

Tabela C – Média e desvio padrão dos valores hematológicos obtidos dos bovinos girolandos naturalmente infectados por *Babesia* spp. no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ – 2009.

ERITROGRAMA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Eritrócitos (x 10 ⁶ / µl)	6,1 ± 1,6
Hematócrito / VG (%)	24,5 ± 5,5
Hemoglobina (g/dl)	7,5 ± 1,9
VCM (fl)	40,9 ± 4,2
CHCM (%)	30,6 ± 1,8
LEUCOGRAMA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Leucometria Global (x 10 ³ / µl)	14,0 ± 4,7
Leucometria Específica/Valores Absolutos(/ µl)	
Basófilos	0,0 ± 0,0
Eosinófilos	266,8 ± 184,2
Neutrófilos	
Bastões	36,8 ± 75,8
Segmentados	3957,8 ± 3494,0
Linfócitos	8643,1 ± 2771,7
Monócitos	1050,5 ± 578,0
PLAQUETOMETRIA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Plaquetas (x 10 ³ / µl)	294,9 ± 113,1

Tabela D – Média e desvio padrão dos valores hematológicos obtidos dos bovinos girolandos naturalmente infectados por *Anaplasma bovis* no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ – 2009.

ERITROGRAMA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Eritrócitos (x 10 ⁶ / µl)	5,9 ± 1,5
Hematócrito / VG (%)	24,8 ± 5,5
Hemoglobina (g/dl)	7,6 ± 1,9
VCM (fl)	42,1 ± 3,8
CHCM (%)	30,5 ± 1,6
LEUCOGRAMA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Leucometria Global (x 10 ³ / µl)	11,3 ± 3,7
Leucometria Específica/Valores Absolutos(/ µl)	
Basófilos	0,0 ± 0,0
Eosinófilos	212,0 ± 152,0
Neutrófilos	
Bastões	93,2 ± 172,6
Segmentados	2520,7 ± 1944,5
Linfócitos	7634,5 ± 1683,2
Monócitos	889,5 ± 279,8
PLAQUETOMETRIA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Plaquetas (x 10 ³ / µl)	337,0 ± 193,5

Tabela E – Média e desvio padrão dos valores hematológicos obtidos dos bovinos girolandos naturalmente infectados por *Anaplasma marginale* e *Babesia* spp. no município de Bom Jesus do Itabapoana, RJ – 2009.

ERITROGRAMA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Eritrócitos (x 10 ⁶ / µl)	5,7 ± 1,6
Hematócrito / VG (%)	23,6 ± 5,8
Hemoglobina (g/dl)	7,2 ± 1,8
VCM (fl)	42,2 ± 4,0
CHCM (%)	30,7 ± 1,7
LEUCOGRAMA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Leucometria Global (x 10 ³ / µl)	14,6 ± 5,2
Leucometria Específica/Valores Absolutos(/ µl)	
Basófilos	0,0 ± 0,0
Eosinófilos	291,0 ± 211,6
Neutrófilos	
Bastões	66,0 ± 98,6
Segmentados	3148,0 ± 1489,7
Linfócitos	8526,7 ± 3125,6
Monócitos	1215,3 ± 564,4
PLAQUETOMETRIA	
Índices avaliados	Valores (Média ± Dp)
Plaquetas (x 10 ³ / µl)	266,6 ± 103,5