

**OCORRÊNCIA E DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL DE  
*Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1936) Dumler et al.  
(2001) NA MICRORREGIÃO DE CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

**CLÁUDIO FERNANDES SANTOS**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

**MARÇO – 2005**

**OCORRÊNCIA E DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL DE  
*Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1936) Dumler et al.  
(2001) NA MICRORREGIÃO DE CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

**CLÁUDIO FERNANDES SANTOS**

**Tese apresentada ao Centro de  
Ciências e Tecnologias Agropecuárias da  
Universidade Estadual do Norte  
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte  
das exigências para a obtenção do título  
de Mestre em Produção Animal.**

***Orientador: Prof. Cláudio Baptista de Carvalho***

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2005**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 011/2005

Santos, Cláudio Fernandes

Ocorrência e diagnóstico clínico-laboratorial de *Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1938) Dumler et al. (2001) na microrregião de Campos dos Goytacazes - RJ / Cláudio Fernandes Santos. – 2005.

30 f. : il.

Orientador: Cláudio Batista de Carvalho

Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2005.

Bibliografia: f. 26 – 30.

1. Hemoparasito 2. Ocorrência 3. Riquetsia I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 636.08960192

**OCORRÊNCIA E DIAGNÓSTICO CLÍNICO-LABORATORIAL DE  
*Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1936) Dumler et al.  
(2001) NA MICRORREGIÃO DE CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

**CLÁUDIO FERNANDES SANTOS**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Aprovada em 14 de março de 2005

**Comissão Examinadora:**

---

Prof. Carlos Luiz Massard (*PhD.*, Parasitologia Veterinária) – UFRRJ

---

Prof. Francisco Carlos Rodrigues Oliveira (*PhD*, Clínica Médica) – UENF

---

Prof. Antônio Peixoto Albernaz (Doutor, Clínica Médica) – UENF

---

Prof. Cláudio Baptista de Carvalho (Doutor, Clínica Médica) – UENF  
(Orientador)

## OFERTÓRIO

Senhor, em Teu olhar  
vou colocar meus olhos;  
em tuas mãos,  
a destreza das minhas;  
em Teu coração divino,  
meu coração humano;  
em Tua sabedoria,  
a luz do meu cérebro,  
porque tudo o que vejo e toco,  
porque tudo o que sinto e sei,  
estará a Teu serviço  
no serviço que prestarei;  
porque é Teu, a Cura de Minha Alma  
meu fazer de Médico,  
o que farei.

Moacir Sacramento

A

meu avô Cláudio, que no início de minha vida  
me ensinou a cuidar e amar os animais

Aos

meus pais por todo apoio, incentivo e amor

A

minha avó Edyna, por todo carinho e estímulo

DEDICO

## *AGRADECIMENTOS*

A Deus, por todas as bênçãos e graças que me fizeram chegar até aqui.

À minha família, pelo apoio, incentivo, compreensão e amor.

Ao meu orientador, Prof. Cláudio Baptista de Carvalho, pela confiança em mim depositada, incentivo e amizade.

Aos colegas, Lério Gama Sales e Orlando Augusto Melo Júnior, pelo apoio.

Aos amigos, José Evaldo Machado e Josias Alves Machado, pelo auxílio sempre presente e amizade.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudo.

À UENF, pela oportunidade de aprimoramento de meus conhecimentos.

Ao Professor Carlos Luiz Massard, pelos ensinamentos e apoio vital para o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

À Professora Célia Raquel Quirino, pelo auxílio no desenvolvimento das análises estatísticas.

Aos mestres que verdadeiramente contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

Aos donos das propriedades rurais que permitiram a realização desta pesquisa.

Ao meu amor, pelo auxílio na fase de conclusão deste trabalho.

Àqueles que contribuíram direta ou indiretamente para esta realização.

## *BIOGRAFIA*

CLÁUDIO FERNANDES SANTOS, filho de José Joaquim Gomes dos Santos e Terezinha Fernandes Santos, nasceu em 16 de março de 1980, na cidade de Bom Jardim – RJ.

Em março de 1998 iniciou o Curso de Medicina Veterinária, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, concluído em dezembro de 2002.

Foi admitido em março de 2003 no Curso de Pós-graduação em Produção Animal, Mestrado, Sanidade Animal, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, em Campos dos Goytacazes – RJ, submetendo-se à defesa de tese para conclusão do curso em março de 2005.

Em fevereiro de 2005, foi selecionado para ingresso no Curso de Pós-graduação em Produção Animal, área de concentração Sanidade Animal, Doutorado, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF.



## CONTEÚDO

<b>RESUMO</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1. Posição Taxonômica.....	3
2.2 Morfologia e Ciclo Biológico.....	4
2.3. Aspectos clínicos, patológicos e diagnósticos da ehrlichiose bovina.....	6
2.4. Outras espécies de hemoparasitos.....	8
2.5. Aspectos bioquímicos.....	10
2.5.1. Aspartato aminotransferase – AST.....	11
2.5.2. Gamaglutamiltransferase - $\gamma$ GT.....	12
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
3.1. Local da coleta.....	14
3.2. Cálculo para o tamanho das amostras.....	14
3.3. Avaliação Clínica.....	15
3.4. Coleta de material e exames laboratoriais.....	15
3.4.1. Esfregaços sangüíneos.....	15
3.4.2. Diagnóstico em esfregaços sangüíneos.....	15
3.4.3. Amostras de sangue total.....	16
3.4.4. Hemograma e avaliação bioquímica.....	16

3.5. Análise estatística.....	17
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>18</b>
4.1. Identificação de hemoparasitos.....	18
4.2. Alterações hematológicas e do exame clínico.....	22
4.3. Dados das propriedades rurais.....	24
4.4. Análise estatística.....	24
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>25</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>26</b>

## RESUMO

SANTOS, C.F., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março de 2005; Ocorrência e diagnóstico clínico-laboratorial de *Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1936) Dumler et al., (2001) na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ; Professor Orientador: Prof.: Cláudio Baptista de Carvalho.

O presente trabalho relata a ocorrência e o diagnóstico clínico-laboratorial de *Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1936) Dumler et al. (2001), realizado pela primeira vez em municípios pertencentes à microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ. Coletou-se sangue com e sem anticoagulante (de onde se extraiu o soro) e realizaram-se esfregaços sangüíneos de sangue periférico de 151 animais com até um ano de idade, provenientes dos municípios de Campos dos Goytacazes, Cardoso Moreira, São Fidélis e São João da Barra. O *Anaplasma bovis* foi diagnosticado em cinco animais (3,31%); o *Anaplasma marginale*, em outros 11 (7,28%); e em três (1,99%), a presença de *Babesia bigemina*. Os animais portadores de *Anaplasma bovis* apresentavam-se debilitados, com temperatura retal elevada, mucosas hipocoradas e linfonodos pré-escapulares aumentados. O quadro hematológico apresentado por estes revelou, em sua maioria, anemia, leucocitose, eosinopenia, linfocitose e neutropenia e grande número de monócitos com citoplasma vacuolado. Todos os animais portadores de *Anaplasma bovis* apresentaram as concentrações séricas de aspartato aminotransferase elevadas.

Palavras-chave: Hemoparasito, Ocorrência, Riquetsia

## ABSTRACT

SANTOS, C.F., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; march of 2005; Occurrence and clinical-laboratorial diagnosis of *Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1936) Dumler et al., (2001) in the microregion of the Campos dos Goytacazes – RJ; Advisor: Prof.: Cláudio Baptista de Carvalho.

The present study shows the occurrence and the clinical and laboratorial diagnosis of *Anaplasma bovis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1936) Dumler et al. (2001) carried out for the first time in the microregion of Campos dos Goytacazes – RJ. Blood samples were collected either with or without anticoagulant (from serum extracted) and peripheral blood smears collected from 151 calves up to one year old. All animals came from Campos dos Goytacazes, Cardoso Moreira, São Fidélis and São João da Barra cities. The results showed that *Anaplasma bovis* was diagnosed in five animals (3,31%), *Anaplasma marginale* in 11 (7,28%) and the presence of *Babesia bigemina* corresponded to three animals (1,99%). The prevalent signals presented by the animals infected with *Anaplasma bovis* were: debility, fever, pale mucous membranes, and increased prescapular lymph nodes. The hematological profile presented by infected animals, were in the majority, anemia, leukocytosis, eosinopenia, lymphocytosis, neutropenia and large number of vacuolated monocytes cytoplasm. All the animals positive for *Anaplasma bovis* showed increased levels of aspartate aminotransferase in the serum.

Key words: Hemoparasite, Occurrence, Rickettsia.

## 1. INTRODUÇÃO

Os estudos referentes aos hemoparasitos encontrados em bovinos no Brasil, bem como em quase toda a América Latina, estão relacionados a protozoários dos gêneros *Babesia* (representados por *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*) e *Trypanosoma* (representados por *Trypanosoma vivax* e *Trypanosoma theileri*), sendo transmitidos por artrópodes hematófagos com transmissão cíclica ou mecânica. A distribuição desses protozoários entre rebanhos depende de fatores ecológicos definidos, com destaque para a existência de vetores adequados (MASSARD, 1984).

Em relação aos organismos rickettsiais, os gêneros *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Eperythrozoon* apresentam-se como gêneros e espécies já diagnosticados no Brasil. *Anaplasma marginale* tem sido considerado mais prevalente e com íntima relação ao quadro de Tristeza Parasitária Bovina, quando aparece interagindo com *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* (MASSARD, 1984).

A erliquiose é causada por um grupo de microrganismos, gram-negativos, intracelulares obrigatórios e pleomórficos, os quais parasitam células brancas circulantes de várias espécies de animais domésticos e silvestres, inclusive o homem (MACHADO, 2004).

*Ehrlichia bovis* já foi reportado inicialmente no município de Itaguaí, no estado do Rio de Janeiro e posteriormente em várias localidades da Região Sul Fluminense e região serrana, com destaque para os municípios de Rio Claro, Barra Mansa, Valença, Barra do Piraí e Petrópolis. Até o presente momento nenhum

estudo foi realizado nos municípios das regiões Norte e Noroeste Fluminense. A sintomatologia da *E. bovis* assemelha-se a outras formas de Ehrlichioses, como aquelas causadas por *E. canis*, *E. equi*, *E. chafensis*, *E. platis*, *E. ewingii*, todas consideradas patogênicas por seus hospedeiros habituais e com forte potencial zoonótico, sendo responsáveis por perdas econômicas e certos entraves ao desenvolvimento de atividades de criação (MASSARD, 1984).

O gênero *Ehrlichia* foi reorganizado em outros gêneros, tendo como base análises de similaridade genética entre os parasitos. Assim, algumas espécies de *Ehrlichia* foram unificadas com *Anaplasma*, incluindo *Ehrlichia bovis*, que passou a ser designada *Anaplasma bovis* (DUMLER et al., 2001).

Este trabalho objetivou verificar a ocorrência do *Anaplasma bovis*, através do diagnóstico clínico, hematológico e bioquímico, em bovinos destinados à produção leiteira e criados na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ. Concomitantemente, verificou-se a ocorrência de outros hemoparasitos (*Anaplasma marginale* e *Babesia bigemina*) e a utilização de acaricidas nas propriedades rurais visitadas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Posição Taxonômica

A tribo *Ehrlichia* contém bactérias parasitas intracelulares com tropismo por leucócitos e compreende três gêneros: *Ehrlichia*, *Cowdria* e *Neorickettsia*. A tribo *Ehrlichia* está incluída na família das *Rickettsiaceae* (RIKIHISA, 1991). A diferenciação entre as espécies parasitas de ruminantes estava baseada no tipo de célula parasitada, na distribuição geográfica e na severidade da doença produzida, determinando a seguinte posição taxonômica:

ORDEM: Rickettsiales Gieszczykiewicz, 1939.

FAMÍLIA: Rickettsiaceae Pinkerton, 1936.

TRIBO: Ehrlichiae Philip, 1957.

GÊNERO: *Ehrlichia* Moroshkowsky, 1945.

ESPÉCIES:

*E. canis* Donatien e Lestoquard, 1935.

*E. bovis* Donatien e Lestoquard, 1936.

*E. ovina* Lestoquard e Donatien, 1936.

*E. phagocytophila* Foggie, 1951.

*E. sennetsu* Misao e Kobayashi, 1956.

*E. equi* Gribble, 1969.

*E. ewingii* Ewing, 1971.

- E. ondiri* Krauss, 1972.
- E. platys* French e Harvey, 1982.
- E. risticii* Holland, 1985.
- E. chaffeensis* Maeda, 1986.
- E. muris* Kawahara, 1993.

DUMLER et al. (2001) propuseram reorganizar o gênero *Ehrlichia* em outros gêneros, tendo como base as análises de similaridade genética entre os parasitos. Assim, algumas espécies de *Ehrlichia* foram unificadas com *Anaplasma*, incluindo *Ehrlichia phagocytophyla*, *Ehrlichia platys* e *Ehrlichia bovis*, que passaram a ser designadas, respectivamente, como: *Anaplasma phagocytophila*, *Anaplasma platys* e *Anaplasma bovis*.

Os dados referentes a hospedeiros, doença transmitida, transmissores, distribuição geográfica e tipo de célula parasitada pelas espécies de parasitos da tribo *Ehrlichiaecae* foram reunidas no Quadro 1.

## 2.2. Morfologia e Ciclo Biológico

Em microscopia óptica, para fins de diagnóstico de *E. bovis*, tem-se utilizado, desde 1935, em esfregaços sangüíneos, a técnica de coloração de Giemsa ou May-Grünwald-Giemsa. As formas intracitoplasmáticas do parasito coram-se em vermelho, lilás ou azul púrpura, de acordo com a fase de desenvolvimento em que se encontram (DONATIEN e LESTOQUARD, 1936).

O aspecto morfológico de *E. bovis* também foi estudado por SREEKUMAR et al. (1996) em esfregaços sangüíneos de bovinos, atendidos pela clínica de grandes animais da Faculdade de Veterinária de Madras na Índia, os quais apresentavam sintomas como febre, linfadenite, debilidade e severa infestação por carrapatos. Nos esfregaços sangüíneos que foram corados pelo Giemsa, *E. bovis* foi observada como corpos intracitoplasmáticos de tamanhos e formas variáveis, medindo de 1 a 6 micrômetros, corando-se em vermelho, roxo claro e roxo escuro.

*E. bovis* foi caracterizada por DONATIEN e LESTOQUARD (1936) como agrupamento de microorganismos em colônias circulares, poligonais ou elípticas, com bordos arredondados e dimensões que mediam de 11 micrômetros para as colônias maiores até 1 a 2 micrômetros para as menores colônias.



Quadro 1. Características diferenciais de algumas espécies da tribo *Ehrlichieae*

ESPÉCIE	HOSPEDEIROS	DOENÇA(S)	CÉLULA PARASITADA	TRANSMISSORES	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA
<i>E. canis</i>	canídeos	Ehrlichiose canina, pancitopenia tropical	Mononucleares e polimorfonucleares	<i>R. sanguineus</i>	cosmopolita
<i>E. bovis</i>	bovinos	Ehrlichiose bovina	Mononucleares	<i>Hyaloma sp.</i> , <i>A. cajanense</i> , <i>A. variegatum</i>	África, Sri Lanka, Guadalupe, Irã, Brasil
<i>E. equi</i>	eqüídeos	Ehrlichiose equina	Neutrófilos e eosinófilos	Não determinado	Estados Unidos da América, Europa
<i>E. phagocytophila</i>	ovinos, bovinos, bisão	“Tick-borne fever”	Neutrófilos e eosinófilos	<i>I. ricinus</i>	Europa
<i>E. ondiri</i>	bovinos e ovinos	Febre petequial bovina	Neutrófilos e eosinófilos	Não determinado	África (Quênia)
<i>E. platys</i>	canídeos	Trombocitopenia cíclica canina	Plaquetas	Não determinado	Israel, EUA.
<i>E. ovina</i>	ovinos	Ehrlichiose ovina	Mononucleares	<i>R. bursa</i> , <i>R. eversti</i>	África, Ásia (Turquia)

Fonte:

MASSARD (1984). RIKIHISA (1991).

Em estudos posteriores, DONATIEN e LESTOQUARD (1938, 1940b), ao compararem morfologicamente *E. bovis* e outras riquetsias como *E. canis*, *E. ovina*, *Cowdria ruminantium* (Cowdry, 1925), *Colesiota conjunctivae* (Coles, 1931) e *Rickettsia conorii* (Brumpt, 1932), concluíram que as citadas riquetsias eram semelhantes morfologicamente e apresentavam três estágios de desenvolvimento denominados: corpos elementares, que são constituídos de pequenos agrupamentos de microrganismos; corpos iniciais para as grandes massas homogêneas e mórulas, representando as maiores formações, superando em tamanho os corpos iniciais. Tal formação, provavelmente, é o resultado da separação de uma grande inclusão, considerada como transitória. Os mesmos autores também relataram que as citadas mórulas foram freqüentemente encontradas em infecções causadas por *E. bovis*, *E. ovina*, *E. canis* e de rara ocorrência nas infecções causadas por *C. ruminantium* e *R. conorii*.

Em cultivos *in vitro* de *E. canis* em monócitos de cão, NYINDO et al., (1971) puderam observar as fases de desenvolvimento deste parasito, notando que a infecção tinha início pelos corpos elementares, os quais se desenvolviam originando estruturas maiores - os corpos iniciais - que, em sua continuidade, eventualmente originavam estruturas maiores, as mórulas. Tal desenvolvimento foi observado em monócitos infectados das culturas, em sucessivas colorações pelo Giemsa e marcados pela imunofluorescência direta.

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

### **2.3. Aspectos clínicos, patológicos e diagnósticos da ehrlichiose bovina**

A primeira observação do agente etiológico da ehrlichiose bovina, *E. bovis*, foi realizada, em condições experimentais, por DONATIEN e LESTOQUARD (1936), quando comparavam a biologia de cepas iranianas e argelinas de parasitos do gênero *Theileria*. Os citados autores observaram que os animais apresentavam hipertermia irregular, atingindo temperaturas que algumas vezes superavam 40°C. O quadro clínico era acompanhado por emagrecimento e apatia. Após necropsia de um dos animais sacrificados, acometido pela patologia, constataram-se

esplenomegalia, hipertrofia de linfonodos, aumento da serosidade pleural e pericárdica. Também foi relatado a presença do microrganismo, em grande número, em células mononucleares dos pulmões, baço, sangue periférico, capilares da pele e outros órgãos. Posteriormente, *E. bovis* foi descrita pelos mesmos autores (DONATIEN e LESTOQUARD, 1940a), acometendo naturalmente bovinos argelinos, muitas vezes associada a protozoários do gênero *Theileria*.

Outras observações de *E. bovis* foram feitas, como a de GIRARD e ROSSELOT (1945) em Banguidela, Mali, nas quais foram evidenciadas, dentre outras lesões, a hipertrofia e edema acentuado dos linfonodos preparotídeos. Também foi relatado por FINELLE (1958) o diagnóstico de *E. bovis* em bovinos na República Centro Africana, em cujo relato o referido parasito tem sido considerado pouco patogênico. Porém, em condições desfavoráveis, ou quando associado a outras patologias, pode provocar uma doença grave e até mesmo a morte dos animais infectados.

A patologia também foi descrita por RIOCHE (1966, 1967) apud MASSARD (1984) em 10 bovinos transportados da Tunísia para o Senegal, quando a doença foi observada na forma superaguda em dois deles, que vieram a morrer em 12 horas. As alterações hematológicas nos animais acometidos foram caracterizadas por leucocitose, monocitose, com grande número de monócitos possuíam o citoplasma vacuolado e intensa eosinopenia entre outras, constituindo um quadro característico para a ehrlichiose bovina. Ainda o mesmo autor relata a ocorrência de lesões hemorrágicas em diversos órgãos e hipertrofia dos linfonodos. Nos rins, foi relatada a ocorrência de congestão e hemorragia e, ainda, observados microscopicamente a necrose dos túbulos uriníferos, lesões que foram consideradas de valor diagnóstico no *post-mortem* da ehrlichiose bovina.

No Brasil, o primeiro diagnóstico de *E. bovis* foi feito por MASSARD e MASSARD (1982) que identificaram o parasito em esfregaços sangüíneos, corados pelo Giemsa, no citoplasma de células mononucleares em 11 bovinos com menos de um ano de idade, os quais demonstravam sinais de debilidade orgânica e anemia. Posteriormente, a patologia foi diagnosticada pelos mesmos autores em bovinos aparentemente sadios que provavelmente apresentavam a forma crônica da doença. Foi também observada, em alguns dos animais positivos, a associação de *E. bovis* com *B. bigemina*, *B. bovis* e/ou *A. marginale*.

PIERRE (1983) descreveu infecção por *E. bovis* na Costa do Marfim, onde os animais acometidos apresentavam, entre outros sintomas, ptose do pavilhão auricular, adenite parotidiana, piorréia e epífora, acompanhados por uma forma de paralisia aguda e mortal.

Foi relatado por MASSARD (1984), durante exames em rebanhos de seu estudo, a ocorrência de febre, infartamento de linfonodos, emagrecimento e atraso de desenvolvimento em animais portadores de *E. bovis*. O diagnóstico de *E. bovis* foi realizado em esfregaços sangüíneos corados pelo Giemsa, quando estas riquétsias apresentavam-se em forma de grânulos cocóides, arredondados ou ovais, agrupados em colônias, geralmente localizadas em vacúolos no citoplasma da célula hospedeira. A coloração observada foi ligeiramente diferente da do núcleo da célula, em tonalidade azul púrpura, lilás ou vermelho. Também nesses animais positivos para *E. bovis*, foram constatados, em exames laboratoriais, o quadro de leucocitose, eosinopenia, monócitos vacuolados e a presença de numerosas células jovens nos esfregaços sangüíneos.

*Ehrlichia bovis* foi detectada por SREEKUMAR et al. (2000) em Madras, Índia, parasitando monócitos cultivados em meio RPMI 1640, provenientes de um bubalino que apresentava temperatura retal de 39,4°C, mucosas congestionadas e anorexia. *E. bovis* foi evidenciada após dez dias de cultivo, sendo identificada com base em sua morfologia, coloração e imunofluorescência com anti-soro contra *Ehrlichia canis*.

Recentemente, *Anaplasma bovis* foi descrito em Massachusetts, EUA, por GOETHERT e TELFORD (2003), empregando a metodologia de PCR, em amostras de sangue de coelhos silvestres (*Sylvilagus floridanus*) da ilha de Nantucket. Este parasito nunca tinha sido descrito anteriormente na América do Norte, bem como parasitando pequenos mamíferos.

#### **2.4. Outras espécies de hemoparasitos**

FARIAS (2001b) descreveu que se denomina Tristeza Parasitária Bovina (TPB) o complexo de duas enfermidades causadas por agentes etiológicos distintos, porém com sinais clínicos e epidemiologia similares: babesiose e anaplasmose. *Babesia spp.* e *Anaplasma marginale* que são parasitas intraeritrocitários, transmitidos pelo carrapato *Boophilus microplus*, cuja flutuação populacional está

relacionada à morbidade causada pela patologia, e a enfermidade que causam é devida, principalmente, à intensa destruição dos eritrócitos do hospedeiro. *Anaplasma marginale* pode, ainda, ser transmitido mecanicamente por insetos hematófagos, como moscas, mutucas e mosquitos ou por instrumentos durante castração e vacinação.

O período de incubação de *Babesia* spp. varia de 7 a 10 dias, enquanto o de *Anaplasma marginale* geralmente é superior a 20 dias. Deve-se, no entanto, salientar o fato de que *B. bovis* é inoculada no bovino por larvas do carrapato a partir do primeiro dia de parasitismo, e *B. bigemina* somente começa a ser inoculada pelo estágio ninfal, ou seja, cerca de oito dias após a fixação das larvas. Por isso, ao serem introduzidos bovinos não imunes em um campo infestado por carrapatos com *Babesia* spp., 7-10 dias após, surgem os primeiros casos 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*. Portanto, os casos mais tardios de babesiose por *B. bigemina* podem coincidir com os primeiros casos de anaplasmose (FARIAS, 2001b).

A TPB trata-se de enfermidade de elevadas morbidade e mortalidade, sobretudo em adultos primo-infectados. Os bezerros são protegidos por imunidade não específica até a idade de 7-10 meses. No entanto, em áreas de estabilidade enzoótica, como as regiões Sudeste e Centro-Oeste do país, ocorrem também casos clínicos, muitas vezes fatais, em bezerros. A ocorrência de casos isolados ou de surtos de TPB varia segundo a distribuição geográfica do carrapato vetor. Nas áreas endêmicas ou de estabilidade enzoótica, os bezerros se infectam nos primeiros dias de vida, quando têm proteção dos anticorpos colostrais. Ocorrem infecções subclínicas, casos clínicos isolados e, relativamente, baixa mortalidade. É o caso das regiões Sudeste e Centro-Oeste do país (FARIAS, 2001b).

A ocorrência e a intensidade dos sinais clínicos de TPB dependem de vários fatores: espécie; virulência; inóculo; e sensibilidade do hospedeiro. Os principais sinais clínicos são: hipertermia, anorexia, pêlos arrepiados, taquicardia, taquipnéia, redução dos movimentos de ruminação, anemia, icterícia (mais freqüente e intensa na anaplasmose), hemoglobinúria (ausente na anaplasmose e mais intensa na babesiose por *Babesia bigemina*), abatimento, prostração, redução ou suspensão da lactação e sinais nervosos de incoordenação motora, andar cambaleante, movimentos de pedalagem e agressividade, característicos na babesiose por

*Babesia bovis*, devido às lesões cerebrais. Macroscopicamente, podem-se constatar mucosas e serosas anêmicas ou ictéricas, fígado e baço escuros, aumentados e congestos, linfonodos intumescidos e escuros, rins aumentados, vesícula biliar distendida com bile escura, densa e grumosa, hidropericárdio, congestão do córtex cerebral e cerebelar (na babesiose por *B. bovis*), bexiga com urina vermelho-escura (na babesiose por *B. bigemina*) ou levemente avermelhada (na babesiose por *B. bovis*) (FARIAS, 2001b).

Para o diagnóstico da TPB, devem ser levados em conta dados epidemiológicos, sinais clínicos e lesões observadas na necropsia. Porém, o diagnóstico conclusivo e específico só é possível por meio do exame laboratorial, com a identificação do agente em hemácias parasitadas (FARIAS, 2001b).

No Brasil, a babesiose bovina, também conhecida como piroplasmose, é causada por duas espécies de hematozoários, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, amplamente distribuídas entre 40°N e 32°S do Equador. Em condições naturais, estes hematozoários são transmitidos pelo carrapato *Boophilus microplus*. O seu ciclo de vida começa com a inoculação das formas infectantes: os esporozoítos, presentes na saliva dos carrapatos infectados, que alcançarão a circulação sangüínea e penetrarão nas hemácias, onde desenvolverão etapas posteriores de seu ciclo de vida (VILORIA e SALCEDO, 2004).

## **2.5. Aspectos bioquímicos**

ROUSSEL et al. (1997) informam que é fundamental a existência de parâmetros para se avaliarem os resultados obtidos num perfil bioquímico, o que só é possível diante de um número significativo de amostras de uma população. Afirma também que, teoricamente, 95% dos valores populacionais saudáveis encontram-se situados ao redor de uma média, não descartando a possibilidade de um valor fora desta ser absolutamente normal. Indicam ainda que um teste nunca deve ser interpretado de forma isolada e, sim, avaliado de acordo com outros resultados obtidos e com as alterações clínicas encontradas no animal em questão.

### 2.5.1. Aspartato aminotransferase – AST

MEDWAY et al. (1973) informaram que a atividade da AST é mais intensa nos eqüinos, porém encontrou-se atividade considerável em vários órgãos e nas mais variadas espécies. O fígado, o coração, os rins e o músculo esquelético são os locais onde a enzima apresenta maior atividade.

DIRKSEN et al. (1983) informaram que o aumento da AST sérica ocorre na gestação adiantada; dano degenerativo e necrótico agudo do parênquima hepático e nas lesões agudas do miocárdio e no músculo esquelético.

COLES (1984) afirmou que a concentração sérica da AST pode estar aumentada nas hepatopatias, praticamente, em todas as espécies, entretanto, não é um teste específico para lesões hepáticas. A AST ocorre em concentrações elevadíssimas no músculo esquelético e cardíaco e sua mensuração sérica é valiosa na confirmação do diagnóstico de degeneração muscular, o que propicia o extravasamento de quantidades significativas dessa enzima para a circulação em casos de necrose hepatocelular, quando sua concentração sérica pode estar extremamente aumentada.

BOYD apud KANEKO (1989), citou que a presença a AST em poucos tecidos faz com que seja um bom indicador para danos teciduais, através de suas concentrações séricas.

MEYER et al. (1995) esclareceram que, aproximadamente, 60 a 80% da AST estão no interior do hepatócito associada à mitocôndria, enquanto o restante fica na forma solúvel no citoplasma. Afirmaram ainda que, em doenças hepáticas severas em estágio avançado, por exemplo, a cirrose, as concentrações séricas da AST podem estar normais ou apenas pouco aumentadas, provavelmente, devido a uma diminuição da massa hepática viável e à alteração da arquitetura hepática.

Na Tabela 1, os valores normais de AST sérica na espécie bovina, segundo diferentes autores, são apresentados.

Tabela 1 – Valores normais de AST sérica na espécie bovina, segundo diversos autores

<b>Autores</b>	<b>U/L</b>
MEDWAY et al. (1973)	42 - 70
DIRKSEN et al. (1983)	10 - 50
BLOOD et al. (1988)	50 - 150
KANEKO (1989)	78 - 132
CARLSON (1990)	78 - 132
MEYER et al. (1992)	78 - 132
LOPES et al. (1996)	20 - 34

### 2.5.2. Gamaglutamiltransferase - $\gamma$ GT

É uma carboxipeptidase que cliva os grupos glutamyl terminal C e os transfere para peptídeos (COLES, 1984).

As maiores quantidades de  $\gamma$ GT celular estão nos rins e no epitélio do ducto biliar. A  $\gamma$ GT renal é a fonte da  $\gamma$ GT urinária e é um indicador de nefrotoxicidade, juntamente com a fosfatase alcalina urinária. Desordens colestáticas em todas as espécies examinadas resultaram em um aumento sérico da  $\gamma$ GT (BRAUN et al. 1987).

Com exceção do músculo, todas as células têm alguma participação da  $\gamma$ GT em suas atividades de membrana ou no citosol. Estima-se que seu peso molecular varie de 90.000 a 350.000 daltons (BOYD apud KANEKO, 1989),

BRAUN et al. apud BARROS FILHO (1995) informaram que não houve diferença significativa entre as concentrações séricas de  $\gamma$ GT obtidos em machos e fêmeas, em estudo com bezerros das raças Frísia Piednoir, Garonnaise e Pardo Suíço criados na França, com idade variando entre 4 e 6 meses de idade.

ROUSSEL et al. (1997) informaram que a mensuração da  $\gamma$ GT representa um dos testes mais específicos para a avaliação da função hepática na veterinária. Afirmaram ainda que a concentração de  $\gamma$ GT aumenta exageradamente em doenças tubulares renais. Os mesmos autores informaram que, após o consumo do colostro, que é rico em  $\gamma$ GT, os bezerros apresentaram um rápido aumento da concentração sérica dessa enzima, chegando a ser 50 a 100 vezes maior quando comparado às concentrações séricas de bezerros que não tiveram contato com colostro.



FAGLIARI et al. (1998), avaliando bovinos recém natos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah, citaram que a atividade de  $\gamma$ GT foi maior no dia do nascimento com acentuado decréscimo com o avanço da idade. Afirmaram ainda que há uma queda da atividade enzimática ao longo do tempo.

Na Tabela 2, são apresentados os valores séricos de  $\gamma$ GT, considerados normais em bovinos, segundo diversos autores.

Tabela 2 – Valores normais de  $\gamma$ GT sérica na espécie bovina segundo diversos autores

<b>Autores</b>	<b>U/L</b>
SIMENSEN & NANSEN (1974)	17,47
BRAUN et al. (1977)	11,6 a 19,0
MÁRQUEZ et al. (1977)	12,0 a 22,7
BOTELHO et al. (1980)	12,025
DIRKSEN et al. (1983)	10,0 a 20,0
KANEKO (1989)	6,1 a 17,4
MEYER et al. (1992)	11,0 a 24,0
BARROS FILHO (1995)	7,83 a 15,23
LOPES et al. (1996)	6,1 a 17,4

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Local da coleta**

O estudo foi realizado em propriedades rurais produtoras de leite, dos municípios pertencentes à microrregião de Campos dos Goytacazes, sendo eles: Campos dos Goytacazes, Cardoso Moreira, São Fidélis e São João da Barra.

Dados sobre cada fazenda foram coletados por meio de um questionário padronizado onde constavam a identificação da propriedade, número de animais, manejo, finalidade de criação, utilização de medicamentos como: acaricidas, endectocidas e antimicrobianos.

#### **3.2. Cálculo para o tamanho das amostras**

O cálculo para obtenção um número representativo de animais para amostragem foi realizado com auxílio do programa Epi Info, versão 6.04, CDC, Atlanta (DEAN e ARNER, 2002), com base nos dados obtidos pelo Censo Agropecuário do Estado do Rio de Janeiro 1995 – 1996, realizado pelo IBGE, ao nível de confiança de 99,9% e, tomando-se como base uma frequência esperada de 10%, resultando em um número de 151 animais, (bezerros de até um ano de idade), distribuídos proporcionalmente de acordo com a população bovina de cada município acima citado (Tabela 3).

Tabela 3 - Número de bovinos utilizados para a pesquisa de hemoparasitos das espécies *Anaplasma bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*

<b>Município</b>	<b>Número de amostras</b>
Campos dos Goytacazes	85
Cardoso Moreira	10
São Fidélis	25
São João da Barra	31
Total	151

### **3.3. Avaliação Clínica**

A avaliação clínica constou de: observação clínica referente ao estado geral, seguida de aferição da temperatura retal após repouso, observação de mucosas visíveis, inspeção e palpação dos linfonodos superficiais e verificação de sinais de debilidade (DIRKSEN et al., 1993), que foram registrados em ficha individual.

### **3.4. Coleta de material e exames laboratoriais**

#### **3.4.1. Esfregaços sangüíneos**

Com a finalidade de se estudar esta riquetsiose em bezerros naturalmente infectados, foi confeccionado um esfregaço sangüíneo de cada animal, utilizando-se a primeira gota de sangue obtido por punção de vaso sangüíneo periférico da orelha, secos ao ar e identificados. No laboratório, foram corados pelo método de Panótico.

#### **3.4.2. Diagnóstico em esfregaços sangüíneos**

Os esfregaços sangüíneos, após corados pelo método citado, foram observados em microscópio óptico binocular com objetiva de imersão de 100x. A pesquisa de colônias e/ou mórulas de *A. bovis* foi realizada nos leucócitos mononucleares. Foram também pesquisados, nos esfregaços, outros hemoparasitos que poderiam estar associados.

A identificação morfológica de cada espécie foi baseada nos trabalhos de NEITZ, (1956); LEVINE, (1973); LOPES, (1976); MASSARD e MASSARD, (1982).

### 3.4.3. Amostras de sangue total

As amostras de sangue total foram colhidas nas veias jugulares utilizando-se agulha descartável 40X1,2mm e tubos de ensaio. A amostra destinada à realização do hemograma foi acondicionada em tubo contendo EDTA e conservada em caixa térmica com gelo. A amostra para análises bioquímicas foi acondicionada em tubo siliconizado sem anticoagulante.

### 3.4.4. Hemograma e avaliação bioquímica

As amostras de sangue total foram enviadas ao Setor de Patologia Clínica do Laboratório de Sanidade Animal (UENF). O hemograma foi realizado utilizando-se um contador hematológico de células MS4 (Melet Schloesing Laboratories, France), sendo avaliados: hematócrito, hematimetria, hemoglobinometria, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e leucometria global. A determinação da leucometria específica foi realizada no esfregaço sangüíneo confeccionado com o sangue total no laboratório. Os valores normais para avaliação do hemograma foram os de LOPES et al. (1996), conforme Tabela 4.

Tabela 4 – Valores normais do hemograma na espécie bovina segundo LOPES et al. (1996)

<b>Eritrograma</b>			
Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> / µl)			5,5 - 10,0
Hemoglobina (g/dl)			8,0 - 15,0
Hematócrito / VG (%)			24 – 46
HCM (pg)			14,4 - 18,6
VCM (fl)			40 – 60
CHCM (%)			30 – 36
<b>Leucograma</b>			
Leucócitos ( x 10 <sup>3</sup> / µl)			4,0 - 12,0
	Valores Relativos (%)		Valores Absolutos ( / µl)
Bastonetes	0 - 2	Bastonetes	0 - 120
Neutrófilos	15 -45	Neutrófilos	600 - 4000
Linfócitos	45 - 75	Linfócitos	2500 - 7500
Monócitos	2 - 7	Monócitos	25 - 840
Eosinófilos	2 - 20	Eosinófilos	0 - 2400
Basófilos	0 - 2	Basófilos	0 - 200

As amostras sorológicas, após centrifugação (1500 g por 5 minutos), foram acondicionadas em microtubos tipo “Eppendorf” e congeladas em freezer a temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , para posterior realização de análises bioquímicas das enzimas hepáticas Aspartato aminotransferase (AST) e Gamaglutamiltransferase ( $\gamma$ GT) em equipamento espectrofotométrico da marca Microlab 200-Merck, utilizando-se kits comerciais da marca Gold Analisa.

### **3.5. Análise estatística**

Os resultados obtidos foram tabulados e analisados pelo método estatístico do qui-quadrado, ao nível de 5% de probabilidade, de acordo com (PEREIRA, 2001), para avaliar se houve diferença estatística entre a ocorrência de cada um dos hemoparasitos encontrados.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Identificação de hemoparasitos

O exame dos esfregaços sangüíneos de sangue periférico permitiu diagnosticar pela primeira vez, na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ, a ocorrência de *Anaplasma bovis* em leucócitos mononucleares do sangue periférico em bovinos de até um ano de idade, destinados à produção leiteira.

Dos 151 esfregaços sangüíneos confeccionados a partir da primeira gota de sangue obtido por punção de vaso sangüíneo periférico da orelha, e corados pelo método citado, que foram observados em microscópio óptico binocular com objetiva de imersão de 100x e ocular de 10x, após pesquisa nos citados esfregaços sangüíneos, foi possível encontrar hemoparasitos em um total de 19 amostras o que representa 12,58% do total de amostras analisadas (Figura 1), dentre as quais 7,28% correspondem a *Anaplasma marginale*, 3,31% correspondem a *Anaplasma bovis* e 1,99% correspondem a *Babesia bigemina*.

Considerando o total de 19 animais nos quais foram encontrados hemoparasitos, 11 foram microrganismos da espécie *Anaplasma marginale* (57,89%), 5 foram identificados como pertencentes a espécie *Anaplasma bovis* (26,32%) e os 3 restantes a espécie *Babesia bigemina* (15,79%) (Figura 2).

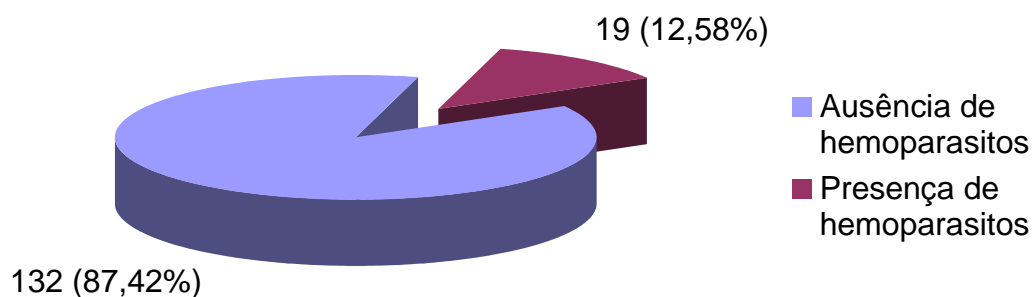


Figura 1 - Número de animais nos quais foi verificado presença de hemoparasitos, na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ, 2004.

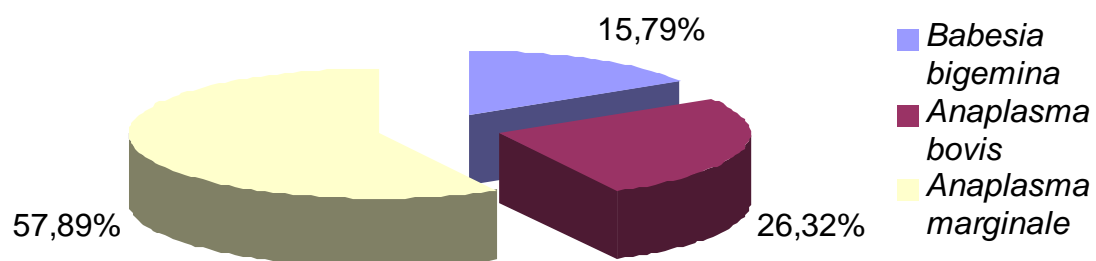


Figura 2 - Percentual de animais pertencentes a cada espécie de hemoparasito, considerando o total de positivos (19), na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ, 2004.

O diagnóstico de *Anaplasma bovis* foi realizado pela identificação das mórulas, consideradas como características do parasito, que são grandes agrupamentos do microrganismo em forma cocóide, em colônias localizadas dentro de vacúolos no citoplasma da célula hospedeira (Figuras 3, 4, 5).

Estas observações morfológicas determinaram que o parasito encontrado foi *Anaplasma bovis*, já tendo sido caracterizado anteriormente por DONATIEN e LESTOQUARD (1936, 1938), e no Brasil por MASSARD e MASSARD (1982) e MASSARD (1984).

Durante o exame microscópico, fato que chamou atenção foi o grande número de monócitos com o citoplasma vacuolado presentes no esfregaço sangüíneo de animais positivos para *Anaplasma bovis*, achado este também relatado por MASSARD (1984).

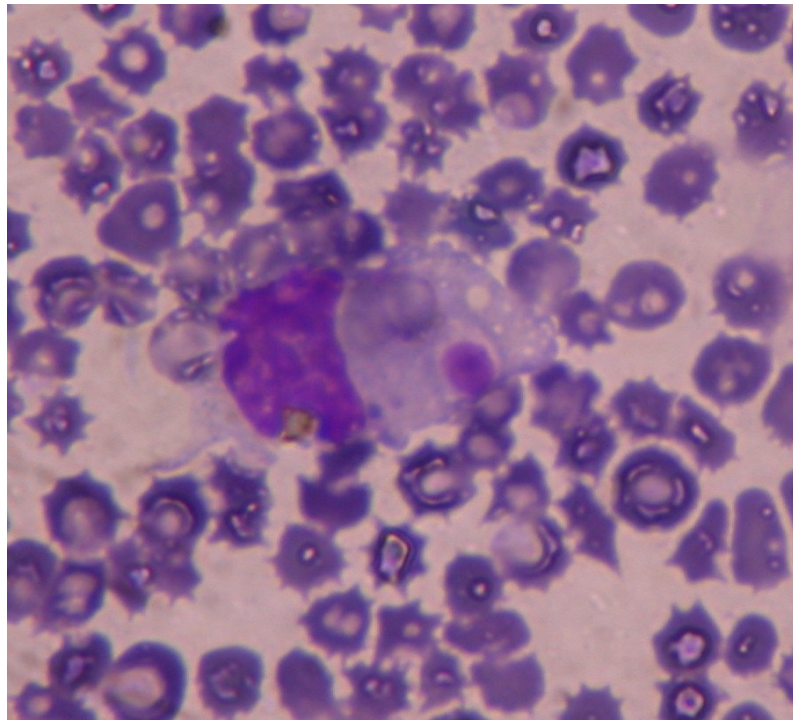


Figura 3: Mórula de *Anaplasma bovis* em monócito; esfregaço de sangue periférico de bovino, na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ, 2004. Coloração de panótico (Oc. 10x, obj.100x).



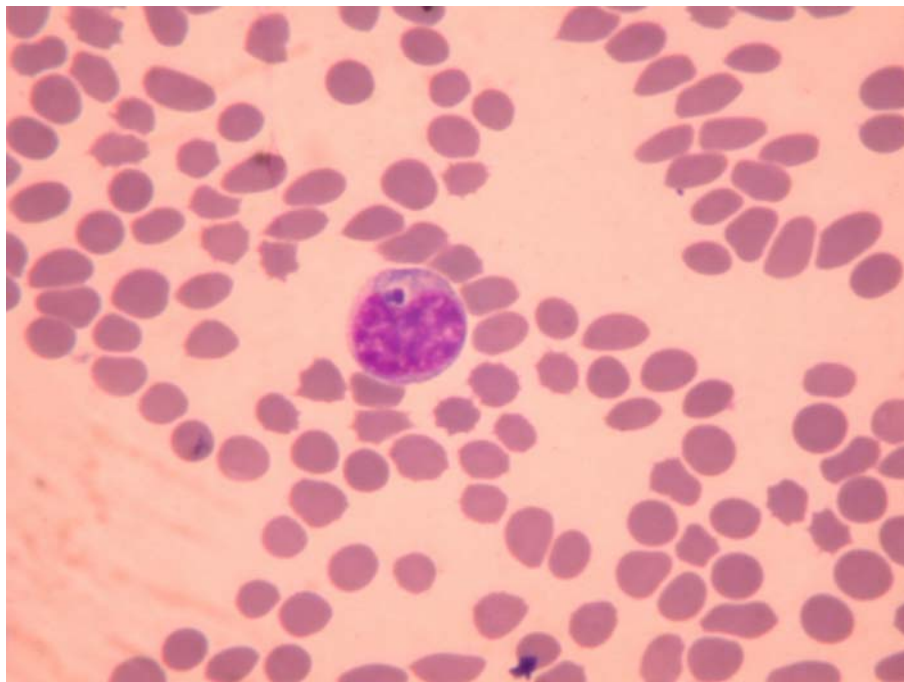


Figura 4: Mórula de *Anaplasma bovis* em linfócito; esfregaço de sangue periférico de bovino, na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ, 2004. Coloração de panótico (Oc. 10x, obj.100x).

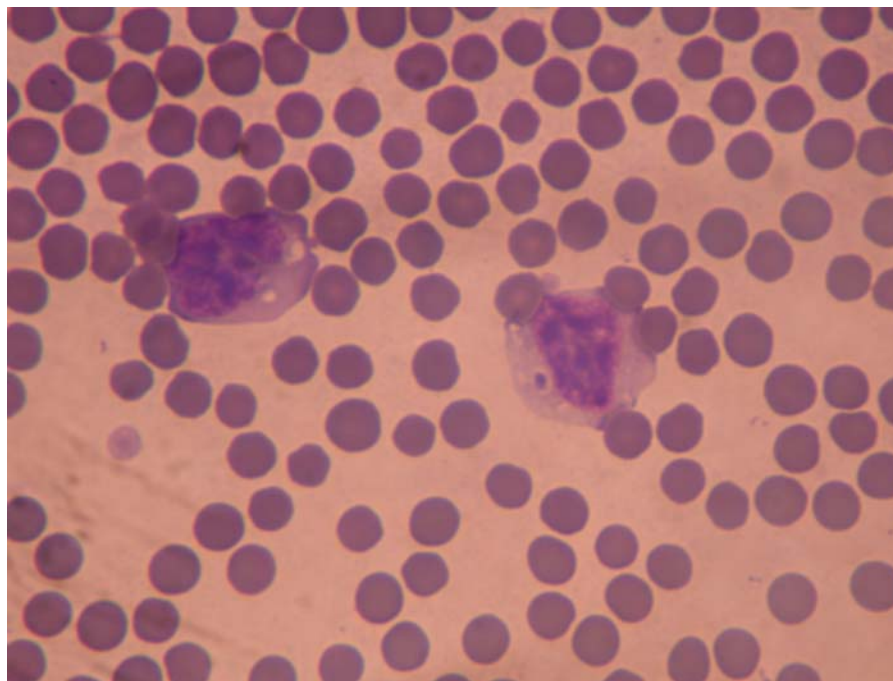


Figura 5 - Inclusão de *Anaplasma bovis* no vacúolo parasitóforo em monócito; esfregaço de sangue periférico de bovino, na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ, 2004. Coloração de panótico (Oc. 10x, obj.100x).

## 4.2. Alterações hematológicas e do exame clínico

Nos animais em que foi diagnosticado, em esfregaços sangüíneos, a presença de *Anaplasma bovis*, constataram-se os seguintes dados relativos ao exame clínico, hemograma e avaliação bioquímica (Tabela 5). Os resultados obtidos do hemograma e das análises bioquímicas foram comparados para avaliação aos observados por LOPES et al. (1996).

As alterações hematológicas observadas nos animais com *Anaplasma bovis*, que incluem leucocitose, monocitose, eosinopenia e grande número de monócitos com citoplasma vacuolado, estão de acordo com as observações de GIRARD e ROUSSELOT (1945), RIOCHE (1966) apud MASSARD (1984) e MASSARD (1984).

As alterações observadas no exame clínico, como febre, infartamento de linfonodos e alterações do estado geral também foram encontradas por DONATIEN e LESTOQUARD (1936), GIRARD e ROSSELOT (1945), MASSARD (1984), SREEKUMAR et al. (2000).

Os valores da AST apresentaram-se elevados em todos os bovinos diagnosticados para *Anaplasma bovis*, o que pode sugerir que os animais portadores desta patologia venham a apresentar tal alteração, porém ainda não dispomos de dados de outros autores que tenham realizado a mesma análise em bovinos positivos para parasito acima citado, necessitando assim de outros trabalhos que venham a confirmar tal achado. O aumento no valor de  $\gamma$ GT foi observado em três dos cinco animais positivos, sendo que, em um destes, o aumento foi de apenas 1,6UI/L em relação aos valores normais para a espécie bovina, citados por LOPES et al., (1996).

Tabela 5 – Dados clínicos, hematológicos e bioquímicos de bovinos naturalmente infectados por *Anaplasma bovis* na microrregião de Campos dos Goytacazes - RJ

Animal	Exame Clínico		Alterações	Hemograma		Bioquímica Sérica	
	Idade	Sexo		Eritrograma	Leucograma	AST (UI/L)	$\gamma$ GT (UI/L)
06	3 meses	macho	Magro, bastante debilitado, pêlos arrepiados, temperatura retal de 39,2°C, mucosas hipocoradas, linfonodos pré-escapulares aumentados	Anemia microcítica normocrômica	Leucocitose (LG <sup>1</sup> : 28000/mm <sup>3</sup> ), eosinopenia relativa, monocitose relativa e absoluta, DNNE <sup>2</sup> leve, neutropenia relativa	119	63
47	4 meses	fêmea	Letárgico, temperatura retal de 39,0°C, mucosas coradas, linfonodos pré-escapulares aumentados	microcitose	Leucocitose (LG <sup>1</sup> : 26700/mm <sup>3</sup> ), neutropenia relativa, linfocitose relativa e absoluta	90	13
78	7 meses	fêmea	Estado geral regular, temperatura retal de 39,1°C, mucosas hipocoradas, linfonodos pré-escapulares normais	Anemia microcítica normocrômica	Eosinopenia relativa, neutropenia relativa, linfocitose relativa e absoluta	53	19
99	2 meses	macho	Estado geral regular, temperatura retal de 39,4°C, mucosas hipocoradas, linfonodos pré-escapulares aumentados	Anemia microcítica normocrômica	Eosinopenia relativa, linfocitose relativa	83	16
119	2 meses	macho	Estado geral regular, temperatura retal de 39,2°C, mucosas coradas, linfonodos pré-escapulares normais	microcitose	Leucocitose (LG <sup>1</sup> : 13600/mm <sup>3</sup> ), eosinopenia relativa, linfocitose relativa e absoluta	51	28

<sup>1</sup> Leucometria Global;

<sup>2</sup> Desvio Nuclear de Neutrófilos à Esquerda.

### 4.3. Dados das propriedades rurais

Foram visitadas um total de 24 propriedades rurais, onde foi relatado pelos proprietários o uso de acaricidas em 20 destas, correspondendo a 83,33% do número total de estabelecimentos visitados. Alguns dos que usaram acaricidas com freqüência relatam a persistência de ocorrência de carrapatos. Em nenhuma destas, havia um critério pré-definido de datas, percentual de animais em que o produto seria aplicado, critérios de aplicação e rotação de princípios ativos utilizados, dados estes que revelam relativo perigo de que venha a ocorrer resistência aos acaricidas.

FARIAS (2001a) ressalta que o histórico de resistência aos carrapaticidas deixa claro que todas as drogas se mantêm eficazes no controle do carrapato, apenas, durante o período de tempo necessário para a seleção de populações resistentes, concluindo que, enquanto não houver uma consciência de técnicos e de produtores no sentido de tomar medidas que prolonguem a vida útil dos acaricidas, através da utilização racional e correta, associada a outras medidas de controle do carrapato, a “história” deverá se repetir: surge a resistência, a indústria lança novas moléculas acaricidas e, passado algum tempo, têm-se cepas resistentes a essas também e espera-se da indústria o lançamento de uma nova droga.

### 4.4. Análise estatística

A análise estatística no presente trabalho, comparando a ocorrência de *Anaplasma marginale*, *Anaplasma bovis* e *Babesia bigemina*, resultou não-significativa ao nível de 5% de probabilidade, indicando não haver diferença estatística na ocorrência destes três hemoparasitos. Apenas encontramos diferença significativa quando comparamos a ocorrência de *Anaplasma marginale* com a de *Babesia bigemina*.

## 5. CONCLUSÕES

O parasito *Anaplasma bovis* ocorre no rebanho da microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ.

O animais portadores apresentavam-se debilitados, com temperatura retal elevada, mucosas hipocoradas e linfonodos pré-escapulares aumentados.

O quadro hematológico destes animais revelou anemia, leucocitose, eosinopenia, linfocitose e neutropenia e grande número de monócitos com citoplasma vacuolado.

Todos os animais portadores apresentaram os níveis séricos de AST elevados.

É necessário estabelecer valores referenciais regionais hematológicos e bioquímicos.

É extremamente importante o desenvolvimento de um programa de controle estratégico do carrapato na microrregião de Campos dos Goytacazes, RJ.

Há necessidade de outros estudos desta patologia.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BARROS FILHO, I.R. (1995). *Contribuição ao estudo da bioquímica clínica em zebuínos da raça Nelore (Bos Indicus, Linnaeus, 1758) criados no estado de São Paulo*. Tese (Mestrado em Clínica Veterinária) – São Paulo – SP., Universidade de São Paulo – USP, 133p.
- BLOOD, D.C., HENDERSON, J. A., RADOSTITS, O.M. (1988). *Clínica Veterinária*. 5ª ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan S. A . 1121 p.
- BOTELHO, G.G., NASCIMENTO, S.C.A.G., SILVEIRA, J.M., NASCIMENTO, F.G. (1980). Gama-glutamyl-transferase em bovinos de abate. *Resumos do Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, 17, Fortaleza, p. 30.
- BRAUN, J.P., RICO, A.G., BERNARD, P., THOUVENOT, J.P, BONNEFIS, M.J. (1977). Blood and tissue distribution of gama glutamyl transferase in calves. *Journal of Dairy Science*. 61(5):596-9.
- BRAUN, J.P.; SIEST, G., RICO, A.G. (1987). Uses of gamma-glutamyltransferase in experimental toxicology. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 31:151-72.
- CARLSON G.P. (1990).Clinical Chemistry Tests. In: Smith, B. P. *Large Animal Internal Medicine*. Toronto. The C. V. Mosby Company, 22 cap. p 386-413.

- COLES, E.H. (1984). *Patologia Clínica Veterinária*. São Paulo. Ed. Manole. 566 p.
- DEAN, A.G., ARNER, T. (2002) Epi Info: Epidemiology of program office. Disponível em <http://www.cdc.gov/epiinfo/index.html> em 20 de agosto de 2003.
- DIRKSEN, G., GRÜNDER, H., STÖBER, M. (1983) *Rosenberger Exame Clínico dos Bovinos*. 3.ed. Guanabara Koogan, 419p.
- DUMLER, J.S., BARBET, A.F., BEKKER, C.P.J., DASCH, G.A., PALMER, G.H., RAY, S.C., RIKIHISA, Y, RURANGIRWA, F.R. (2001) Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, 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*, 51: 2145-2165.
- DONATIEN, A., LESTOQUARD, F. (1936) *Rickettsia bovis*, nouvelle espèce pathogène pour le bouef. *Bullettin de la. Société Pathologie Exotique.*, 29 (10): 1057-1061.
- DONATIEN, A., LESTOQUARD, F. (1938) Du cycle evolutif de quelques *Rickettsia*. *Bullettin de la. Société Pathologie Exotique*, 31: 593-599.
- DONATIEN, A., LESTOQUARD, F. (1940 a) Rickettsiose bovine algérienne à *R. bovis*. *Bullettin de la. Société Pathologie Exotique*. 33: 245-248.
- DONATIEN, A., LESTOQUARD, F. (1940 b) Du cycle evolutif de quelques *Rickettsia*, *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, 18: 203-213.
- FAGLIARI, J.J., SANTANA, A.E., LUCAS, F.A., CAMPOS FILHO, E., CURI, P.R. (1998). Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore

(*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 50(3):253-262.

FARIAS, N.A. (2001a) Controle do carrapato *Boophilus microplus*. In: Riet-Correa, F., Schild, A.L., Méndez, M.D.C., Lemos, R.A.A. (eds) *Doenças de ruminantes e eqüinos*. Varela, p.22-34.

FARIAS, N.A. (2001b) Tristeza parasitária bovina. In: Riet-Correa, F., Schild, A. L., Méndez, M.D.C., Lemos, R.A.A. (eds) *Doenças de ruminantes e eqüinos*. Varela, p.35-42.

FINELE, P. (1958) Rickettsiose à *Rickettsia bovis* en Oubanghi-chari. *Rev. Élev. Med. Pays. Trop.* 11: 291-292.

GIRARD, H., ROSSELOT, R. (1945) La Rickettsiose bovine a *Rickettsia bovis* au Sudan Français. *Bullettin de la. Société Pathologie Exotique.* 38: 64-77.

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

KANEKO, J. (1989). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4<sup>a</sup> ed., New York. Academic Press. 725 p.

LEVINE, N.D. (1973) *Protozoan Parasites of domestic animals and of man*. 2 ed. Mineapolis, Burgess. 406p.

LOPES, C.W.G. (1976) Ocorrência de Protófitas em Ruminantes e Suínos domésticos ainda não descritos no Brasil. Tese de Mestrado – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 73p.

LOPES, S.T.A., CUNHA, C.M.A., BIONDO, A., FAN, L.C.R. (1996) *Patologia Clínica Veterinária*. Santa Maria. 166p.



- MACHADO, R.Z. (2004) Erliquiose canina, *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, 13 (1): 53-57.
- MÁRQUEZ, A.G., FRATTINI, J.F., GRIMOLD, R.J., FERNÁNDEZ, G., TAMAMES, F. A., WILLIAMS, M. B. (1977). Perfil enzimático em sueros de ruminantes: lactico desidrogenase; gamma glutamil transpeptidase; aldolasa; leucin aminopeptidasa; colinesterasa. *Gaceta Veterinaria*. 39(37):33-42.
- MASSARD, C. de A., MASSARD, C.L. (1982) *Ehrlichia bovis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) em Gado de Leite no Brasil. *Arquivo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*. 5 (2): 237-239.
- MASSARD, C. de A. (1984) *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.
- MEDWAY, W., PRIER J.E., WILKINSON, J.S. (1973). *Patologia Clínica Veterinaria*. Mexico. Union Tipografica Editorial Hispano-Americana. 532 p.
- MEYER, D.J., COLES, E.H., RICH, L.J. (1992). *Veterinary Laboratory Medicine – Interpretation and diagnosis*. Philadelphia. W. B. Saunders Company. 349 p.
- MEYER, D.J., COLES, E.H., RICH, L.J. (1995). *Medicina de Laboratório Veterinário: Interpretação e diagnóstico*. São Paulo: Roca, 308p.
- NEITZ, W.O. (1956) Classification, Transmission and Biology of Piroplasms of Domestic Animals. *An. New York Acad. Sci*, 64: 56-111.
- NYINDO, M.B.A., RISTIC, M., HUXSOLL, D.L., SMITH, A.R. (1971). Tropical canine pancytopenia : In vitro cultivation of the causative agent – *Ehrlichia canis*. *American Journal of Veterinary Reseach*, 32: 1651-1658.
- PEREIRA, M.G. (2001). *Epidemiologia teórica e prática*, Rio de Janeiro: ed Guanabara Koogan, 596p.

- PIERRE, F. (1983). L'erlichiose bovine em Cote d'Ivoire. Epidémiologie – Traitement – Profilaxie. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays. Trop.*, 36 (4): 337-341.
- RIKIHISA, Y. (1991). The Tribe *Ehrlichiae* and Ehrlichial Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 4: 286-308.
- ROUSSEL, A. J., WHITNEY, M. S., COLE, D. J. (1997). Interpreting a bovine serum chemistry profile: Part 1. *Food-Animal practice, Veterinary Medicine*. 6:553-566.
- SIMENSEN, M.G., NANSEN, P. (1974). Serum gama glutamyltranspeptidase (GGT) and aspartate-aminotransferase (AST), activities in adult cattle with chronic *Fasciola hepatica* infection. *Acta Veterinaria Scandinavia*. 15(2):239-43.
- SREEKUMAR, C., ANANDAN, R., BALASUNDARAM, S., RAJAVELU, G.(1996). Morphology and Staining Characteristics of *Ehrlichia Bovis*. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 19: 79-83.
- SREEKUMAR, C, ANANDAN, R., BALASUNDARAM, S., JOHN, L. (2000). Detection of an *Ehrlichia bovis* – like Organism in Cultured Buffalo Monocytes. *Tropical Animal Health and Production*, 32: 67-72.
- VILORIA, M.I.V., SALCEDO, J.H.P. (2004) Patofisiologia da infecção causada por *Babesia bovis*, *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, 13 (1): 48-52.