

PREVALÊNCIA DE *Anaplasma marginale* EM BOVINOS DE CORTE DA MICRORREGIÃO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS

PEREIRA, Hiago Martins¹; COLARES, Douglas Rebouças²; DA SILVA, Marianna Mendes Ferreira³; MACIEL, Mateus Marques⁴; ALEXANDRINO, BRUNA⁵

RESUMO

Anaplasma marginale é o agente etiológico da anaplasmose, uma das principais doenças transmitidas por carrapatos devido aos prejuízos que causa no rebanho bovino. Este estudo tem como objetivo investigar a prevalência desse microrganismo na microrregião de Araguaína, Tocantins. Foram utilizadas 200 amostras de sangue total e soro de vacas nelore, aparentemente hígidas, em idade reprodutiva, colhidas em oito propriedades da referida região. As amostras foram analisadas por meio da técnica da PCR Quantitativa (qPCR) e Ensaio Imunosorbente Enzimático Ligado à Enzima Indireto (iELISA). Do total, 96,5% foram positivas (193/200) na qPCR e 95,5% (191/200) no iELISA. Os resultados sugerem que este agente é endêmico na microrregião estudada.

Palavras-chave: Anaplasmose. Carrapatos. Tristeza parasitária.

I. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

Anaplasma marginale é uma bactéria intraeritrocitária transmitida por carrapatos e que acarreta expressivas perdas econômicas em rebanhos bovinos, como anemia grave, aborto, óbito, diminuição na produção de leite, retardo no

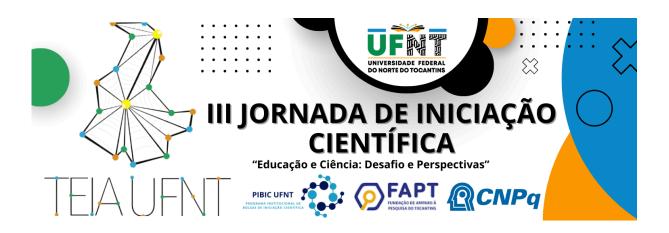
Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. hiago pereira@ufnt.edu.br

Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. douglas.colares@ufnt.edu.br

Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. marianna.silva@ufnt.edu.br

⁴ Acadêmico do Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos trópicos, curso de Mestrado, Centro de Ciências Agrárias. mateus.maciel@ufnt.edu.br

Professora Doutora da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Orientadora do projeto de Iniciação Científica. bruna.alexandrino@ufnt.edu.br



crescimento. O presente trabalho expõe a prevalência desse agente na microrregião de Araguaína, de modo a ser fundamental para o campo das ciências agrárias, mais especificamente nos âmbitos da epidemiologia e microbiologia, envolvendo acadêmicos de diferentes níveis de formação, uma vez que oferece informações que permite a formulação de uma base de dados importante para a comunidade e os profissionais da área. Para mais, configura um pilar imprescindível para elaboração de medidas profiláticas e de controle efetivas que podem minimizar os impactos da infecção por esse agente.

II. BASE TEÓRICA

Segundo o IBGE (2023), o Tocantins possui um rebanho bovino total de mais de 11 milhões de cabeças, sendo que contingente da microrregião de Araguaína corresponde pouco mais de 36% do todo do estado (IBGE, 2023).

Inúmeros microrganismos, podem sozinhos ou em conjunto causar alterações em bovinos (VANROOSE; KRUIF; VAN SOOM, 2000), reduzindo o desempenho produtivo desses animais em consequência das mudanças no organismo (JUNIOR, 1996). O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* transmite biologicamente a anaplasmose (KESSLER, 2001; PACHECO *et al.*, 2004), infecção causada pela *Anaplasma marginale*, que é uma rickettsia intracelular de hemácias (CARELLI *et al.*, 2007). Essa bactéria pode representar um fator central na limitação da produção de carne bovina (AUBRY E GEALE, 2011) uma vez que o animal parasitado pode apresentar febre, aborto, icterícia, perda de peso, ou até mesmo ir à óbito (KOCAN *et al.*, 2003).

Estudos sobre a prevalência e diversidade genética desses agentes são importantes, pois auxiliam na produção de vacinas e melhores estratégias de prevenção e profilaxia dessa doença.



III. OBJETIVOS

Avaliar através de um estudo transversal a prevalência de *Anaplasma marginale* em bovinos nelore, naturalmente infectados, pertencentes a rebanhos de corte da microrregião de Araquaína, Tocantins.

IV. METODOLOGIA

Colheita das amostras

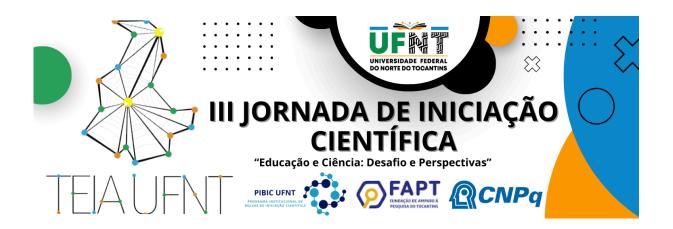
Foram colhidas amostras de sangue total e com EDTA de vacas nelore com idade superior a 24 meses destinadas à reprodução. Os animais estavam hígidos no momento da colheita e a mesma foi realizada durante o manejo de rotina dos animais. O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais (protocolo 005/2023).

Ensaio Imunossorbente Enzimático Ligado à Enzima Indireto (iELISA)

O teste iELISA foi utilizado para detectar anticorpos IgG anti-*Anaplasma marginale*, com base no protocolo de Machado *et al.* (1997) para *B. bovis*, adaptado por Andrade *et al.* (2004).

Extração de DNA e PCR para gene endógeno GAPDH

O DNA das amostras de sangue foi extraído por meio da utilização de Kit Biopur Extração mini spin plus (Mobius®) segundo recomendações do fabricante, sendo armazenados -20 °C, para posterior realização da PCR. Foi realizada a cPCR para o gene endógeno gliceraldeído 3 fosfato desidrogenase (GAPDH) para verificar a presença de inibidores nas amostras de DNA seguindo o protocolo estabelecido por Birkenheuer *et al.* (2003). Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,0% corado com brometo de etídeo (0,625 µL/mL) em tampão de corrida TEB pH 8,0 (44,58 M Tris-base; 44 M ácido



bórico; 12,49mM EDTA). Os resultados foram visualizados e analisados através de um transiluminador de luz ultravioleta acoplado a um programa computacional de análise de imagens (Chemi-Doc, Bio-Rad®).

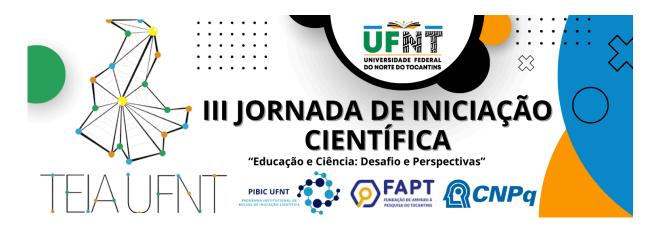
PCR em tempo real quantitativa (qPCR) para A. marginale (gene MSP1β)

As amostras positivas na PCR convencional anteriormente descrita baseada no gene GAPDH foram submetidas à reação de PCR em tempo real quantitativa (qPCR) para *A. marginale* baseada no gene MSP1β seguindo protocolo previamente descrito por Carelli et al. (2007). A Alíquota de DNA da amostra Jaboticabal de A. marginale foi utilizada como controle positivo da reação.

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 200 amostras analisadas todas foram positivas na PCR para o gene endógeno, sendo viável a realização da qPCR. Do total, 96,5% (193/200) foram positivas na qPCR e apenas 3,5% (7/200) foram negativas. Três propriedades apresentaram prevalência de 100,0% e a menor prevalência encontrada foi 90,0% (tabela 1). O resultado da Elisa para pesquisa de anticorpos anti-*Anaplasma* também foi elevado, sendo 95,5% (191/200) das amostras positivas. Vale ressaltar que as amostras negativas, tanto na qPCR quanto na ELISA foram distintas, ou seja, nenhuma foi negativa para ambas as análises.

Tabela 1 - Resultado da qPCR e ELISA para *Anaplasma marginale* realizada com amostras de sangue de bovinos de corte de propriedades pertencentes a microrregião de Araguaína, Tocantins, no período de março a junho de 2024



Propriedade	Municípios	Número de amostras	Positivas qPCR (%)	Positivas ELISA (%)
A	Araguaína	48	47 (97,9)	45 (93,8)
В	Babaçulândia	16	16 (100,0)	15 (93,8)
С	Araguaína	25	25 (100,0)	25 (100,0)
D	Araguanã	20	20 (100,0)	18 (90,0)
Е	Wanderlândia	27	26 (96,3)	27 (100,0)
F	Santa Fé do Araguaína	23	21 (91,3)	23 (100,0)
G	Filadélfia	20	18 (90,0)	18 (90,0)
Н	Xambioá	21	20 (95,2)	20 (95,2)

As porcentagens encontradas foram semelhantes às encontradas por Garcia et al. (2022), no sudeste do país obtendo 91,25% de positividade no <u>iELISA</u> em bovinos da raça Angus; números semelhantes também foram encontrados em estudos realizados na região norte do país por Brito et al. (2007), detectou-se 92,87% e 98,6% de positividade de *A. marginale* na qPCR no Acre e Rondônia, respectivamente.

Os resultados mostram que o agente é endêmico na região estudada, e os animais são resistentes ao agente, pois não haviam animais com sinais clínicos evidenciando alguma enfermidade, corroborando com os dados de Souza *et al.* (2001).

VI. CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

Anaplasma sp. é endêmico na microrregião de Araguaína e pelo fato dos animais apresentarem-se hígidos no momento da colheita, sugere que há um



equilíbrio na relação parasito hospedeiro, sugerindo resistência do gado nelore ao agente pesquisado.

VII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins – FAPT/ Secretaria da Agricultura, Pecuária e Aquicultura – SEAGRO/Governo do Tocantins (Edital Pesquisa Agropecuária – Agrotins), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNQp) pela concessão da bolsa PIBIC, e do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia – PROCAD/Amazônia da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES/Brasil.

VIII. REFERÊNCIAS

ANDRADE, Gisele *et al.* Immunization of bovines using a DNA vaccine (pcDNA3.1/MSP1b) prepared from the Jaboticabal strain of Anaplasma marginale. **Annais New York Academy of Sciences**, New York, v.1026, n.1, p.257-266, 2004.

BIRKENHEUER, Adam; LEVY, Michael; BREITSCHWERDT, Edward. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of Babesia gibsoni (Asian genotype) and B. canis DNA in canine blood samples. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, n. 9, p. 4172-4177, 2003.

BRITO, Luciana *et al.* Estratégias de prevenção e controle da tristeza parasitária bovina (TPB) a partir da avaliação molecular da infecção em rebanhos criados em diferentes regiões fisiográficas dos estados de Rondônia e Acre. **EMBRAPA-Porto Velho, RO**, Porto Velho, v. 329, p. 2, 2007.

CARELLI, Grazia *et al.* Detection and quantification of *Anaplasma marginale* DNA in blood samples of cattle by real-time PCR. **Veterinary Microbiology**. Bari, v. 124, n. 1-2, p.107-114, 2007.

COSTA, Francisco *et al.* Retrospective and new records of ticks (Acari: Argasidae, Ixodidae) from state of Maranhão, an Amazon-Cerrado transition area of Brazil.



Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, Amsterdam, v. 21, n. 10. p. 100-413, 2020

GARCIA, Amanda *et al.* High genetic diversity and superinfection by Anaplasma marginale strains in naturally infected Angus beef cattle during a clinical anaplasmosis outbreak in southeastern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam v. 13, n. 101829, 2022.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Rebanho de Bovinos (Bois e Vacas) no Tocantins**. Tocantins: IBGE, 2023. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br . Acesso em: 30 set. 2024.

JUNIOR, Conceição. Características de adaptação nos cruzamentos de raças européias x zebu. **Cadernos Técnicos Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte. 18, p. 29-35, 1996;

KESSLER, Raul. Considerações sobre a transmissão de *Anaplasma marginale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Campo Grande, v.21, n.4, p. 177-179, 2001.

KOCAN, Katherine *et al.* Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 16, n. 4, p. 698-712, 2003.

MACHADO, Rosangela *et al.* An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against *Babesia bovis* in cattle. **Veterinary Parasitology**, Baton Rouge, v.71, n.1, p.17-26, 1997.

PACHECO, Richard *et al.* Dinâmica da infecção natural pelo *Anaplasma marginale* em vacas e bezerros da raça Holandesa, região de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.25, n.3, p.235-244, 2004.

SOUZA, José *et al.* Prevalência de anticorpos anti *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) em bovinos na mesorregião do médio Paraíba. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 309-314, 2001.

VANROOSE, Geert; KRUIF, Aart.; VANSOOM, Ann. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60-61, p. 131-143, 2000.