



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 hígdas, em idade reprodutiva, colhidas em oito propriedades da referida região. As amostras foram analisadas por meio da técnica da PCR Quantitativa (qPCR) e Ensaio Imunossorvente 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

¹ Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. hiago.pereira@ufnt.edu.br

² Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. douglas.colares@ufnt.edu.br

³ 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.maciell@ufnt.edu.br

⁵ 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 Araguaína, 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 (Möbius®) 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 Aliquota 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)
B	Babaçulândia	16	16 (100,0)	15 (93,8)
C	Araguaína	25	25 (100,0)	25 (100,0)
D	Araguanã	20	20 (100,0)	18 (90,0)
E	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)
H	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 iELISA 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 (CNPq) 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*. **Annals 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.