

COMUNICADO TÉCNICO

167

Brasília, DF outubro, 2023



Controle do carrapato dos bovinos (*Rhipicephalus microplus*) por meio do distanciamento das larvas na pastagem no bioma Cerrado: Sistema *Lone Tick*

Renato Andreotti
Jacqueline Cavalcante Barros
Marcos Valerio Garcia
Namor Pinheiro Zimmermann
Leandra Marla Oshiro
Pâmella Oliveira Duarte
Leandro de Oliveira Souza Higa
Kauê Rodriguez Martins



Controle do carrapato dos bovinos (*Rhipicephalus microplus*) por meio do distanciamento das larvas na pastagem no bioma Cerrado: Sistema *Lone Tick*¹

Introdução

Rhipicephalus microplus é uma espécie de carrapato que possui somente um hospedeiro na fase parasitária (monóxena), tendo os bovinos como principal hospedeiro; esta espécie tem distribuição mundial, ocorrendo entre os paralelos 32° norte e 32° sul (Nuñes et al., 1982). É encontrada em praticamente todo o território brasileiro, onde sua presença na cadeia produtiva da pecuária causa um prejuízo estimado em US\$ 3,24 bilhões/ano (Grisi et al., 2014). Esse carrapato é responsável pela transmissão da tristeza parasitária bovina (TPB), sendo endêmico no bioma Cerrado.

A TPB é uma doença complexa relacionada a três hemoparasitas: *Anaplasma marginale*, uma bactéria

Gram-negativa da ordem Rickettsiales, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* da ordem Piroplasmida e pode causar sinais clínicos como anemia hemolítica, febre, hemoglobinúria e morte (Antunes *et al.*, 2017; Homer *et al.*, 2000).

O nível de infestação de carrapatos nos rebanhos varia de acordo com a presença e grau de raças susceptíveis. Bovinos zebu (*Bos indicus*) são mais resistentes a *R. microplus*, sendo animais rústicos e adaptáveis ao clima do Brasil central (Hansen 2004; Ribeiro *et al.*, 2009), enquanto *Bos taurus* são mais sensíveis em regiões de clima quente, sofrendo estresse calórico e mais parasitismo por *R. microplus* (West 2003).

A resistência aos acaricidas pelos carrapatos de bovino está presente em todas as regiões tropicais e sub-tropicais

Renato Andreotti, Médico-Veterinário, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. Jacqueline Cavalcante Barros, Economista, mestre em Gestão do Agronegócio, analista da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. Marcos Valerio Garcia, Biólogo, doutor em Microbiologia Agropecuária, bolsista Embrapa Gado de Corte/Biotick, Campo Grande, MS. Namor Pinheiro Zimmermann, Médico-Veterinário, doutor em Ciência Animal, professor UFPR – Palotina, PR. Leandra Marla Oshiro, Médica-Veterinária, doutora em Doenças Infecciosas e Parasitárias, bolsista CNPq, Campo Grande, MS. Pâmella Oliveira Duarte, Biologa, doutora em Doenças Infecciosas e Parasitárias, bolsista Embrapa Gado de Corte/Biotick, Campo Grande, MS. Leandro de Oliveira Souza Higa, Biologo, doutor em Doenças Infecciosas e Parasitárias, bolsista Embrapa Gado de Corte/Biotick, Campo Grande, MS. Kauê Rodriguez Martins, Biologo, doutor em Doenças Infecciosas e Parasitárias, bolsista Embrapa Gado de Corte/Biotick, Campo Grande, MS.

no mundo, onde afeta negativamente a economia da pecuária. Essa situação é agravada pelo uso inadequado dos mesmos. Ao lado disso não existem testes disponíveis comercialmente para avaliação (FAO, 2022).

Segundo Pereira et al. (2008), o Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de carne bovina do mundo e os rebanhos zebuínos constituem a sua maioria. Por outro lado, há um grande esforço voltado para o melhoramento genético dos rebanhos através da entrada de novas raças bovinas e seus cruzamentos, gerando animais com maior produtividade (Andreotti et al., 2018). Nesse contexto, a raça Senepol (B. taurus) vem sendo utilizada como opção genética para o desenvolvimento de cruzamentos na pecuária no bioma Cerrado (Piña et al., 2021).

O objetivo deste estudo foi avaliar o controle de carrapatos (*R. microplus*) em bovinos sensíveis ao carrapato, naturalmente infestados, com base no tempo de sobrevivência das larvas nas pastagens, promovendo um distanciamento entre o hospedeiro e o parasito e, além disso, avaliar o perfil dos principais patógenos da TPB no hospedeiro.

Metodologia

Local de estudo

O experimento foi conduzido na Embrapa Gado de Corte, no município de Campo Grande, estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (latitude 20°26'32.60" S e longitude 54°43'8.26" W).

O local onde os animais eram mantidos consistia em uma área de 32 hectares dividida em quatro piquetes de 8 hectares com *Brachiaria brizanta* vr. *marandu*. Os animais receberam sal mineral e água ad libitum.

Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 37 bovinos machos desmamados e castrados da raça Senepol em fase de recria (idade aproximada de 9 meses e peso médio inicial de 190,8 kg). Os animais são provenientes de um sistema de criação tradicional com infestação natural de carrapatos. O local onde os animais foram mantidos ficou sem a presença de bovinos por 85 dias.

O delineamento experimental utilizado no estudo classifica-se como experimento antes-depois (Wainer, 2011; Cohen, 2018) com dados auto emparelhados (Assis *et al.*, 2020) pois as medidas são tomadas em cada unidade experimental antes da intervenção e depois do término da mesma, portanto, as medidas individuais tomadas inicialmente servem de controle por si mesmas.

Esse desenho experimental atende aos princípios éticos da CEUA de evitar a dor e o estresse dos animais, pois o estudo retrata o cenário a campo onde os bovinos sensíveis ao carrapato, em situação convencional no Cerrado, devem receber tratamento com acaricidas

para não sofrerem com o impacto das miíases e o risco de morte pela TPB. A primeira contagem é considerada como controle, refletindo as condições antes do experimento.

O manejo animal seguiu as normas publicadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e os projetos foram aprovados pelo Comitê de Ética Animal (CEUA 5/2018) da Embrapa Gado de Corte.

Manejo dos animais

O carrapato-do-boi completa a fase de vida parasitária no seu hospedeiro em torno de 21 a 28 dias; finalizando com o ingurgitamento das fêmeas, que caem no chão e realizam a postura dos ovos, iniciando assim a fase não parasitária, que constitui 95% da população de carrapatos no ambiente e é fonte de reinfestação de animais (Pereira *et al.*, 2008). Em testes em baias foi verificado que é necessário uma semana para queda de 99% das teleóginas (período correspondente do 21° ao 28° dia) provenientes de larvas que são infestadas no mesmo dia (Pinã *et al.*, 2021). Com base nestes dados foi determinado o tempo de permanência no piquete de 28 dias para a realização da separação entre o carrapato e o bovino.

Cada piquete foi utilizado por 28 dias; portanto, os animais retornaram ao pasto inicial após 84 dias de diferimento (tempo de ausência do hospedeiro no pasto piquete) promovendo um vazio sanitário para o carrapato (Figura 1).

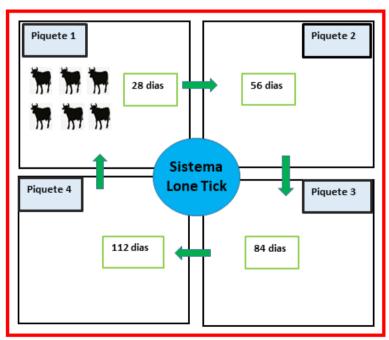


Figura 1. Sistema Lone Tick. Ciclo de pastejo com 112 dias e 84 dias livres de carrapatos.

A cada mudança de pasto após o período de 28 dias, os animais foram pesados e realizadas contagens de carrapatos individualmente. Além disso, amostras biológicas foram coletadas individualmente para avaliar o perfil e as condições clínicas dos agentes de TPB. A primeira contagem de carrapatos foi realizada antes da entrada do gado no primeiro pasto, como controle.

O sangue foi coletado em tubos com e sem EDTA para obtenção de soro sanguíneo; coleta de fezes, avaliações clínicas. Amostras de sangue de oito (21,6%) animais foram selecionadas aleatoriamente antes do início do experimento e submetidas ao teste de ELISA para avaliação da resposta imune e reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para avaliação quantitativa dos agentes da TPB.

A quantidade de eritrócitos foi avaliada pela técnica de microhematócrito (Alves et al., 1986), a contagem de ovos por grama de fezes (EPG) foi determinada de acordo com a técnica descrita por Gordon e Whitlock (1939) para avaliar o nível de infestação parasitária intestinal, e a contagem de carrapatos foi realizada de acordo com a técnica descrita por Wharton e Utech (1970).

Teste de ELISA

Para detectar a presença de anticorpos anti-*B. bigemina* e anti-*A. marginale*, foi realizado um ensaio imunoenzimático indireto (ELISA indireto) utilizando o kit comercial da empresa Imunodot diagnósticos® (Jaboticabal, SP, Brasil), o preparo e os procedimentos seguiram as recomendações do fabricante.

qPCR

Para a extração do DNA genômico foi utilizado um volume de 300 µl de sangue, e o protocolo foi realizado conforme métodos descritos por Di Pietro *et al.* (2011) com modificações de Martins *et al.* (2020). As amostras foram quantificadas por espectrofotometria em NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) com concentração final de 100 ng/ µl e armazenadas em freezer a -80 °C. O equipamento utilizado para PCR em tempo real foi o StepOnePlusTM Real-Time PCR System (Applied BiosystemsTM).

Babesia bigemina qPCR

As amostras para testar B. bigemina foram submetidas à análise qPCR para quantificar o número de cópias circulantes do gene cBisg. A quantificação absoluta foi realizada usando primers (PrimeTime® Std qPCR Assay-IDT-Integrated DNA Technologies®) baseados na sequência B. bigemina LK054939.1 no GenBank e projetados usando o software Primer Quest Tool (IDT Technologies, Coralville, Iowa, EUA) para cobrir um fragmento de 88 pb do gene cBisg (forward primer 5'CGAAGTGCCCAACCATATTA-3'. probe 5'-/56-FAmQCGAGTGTGT/ Zen/ TATCAGAGTATTAACTGAGGT/ 3IABkFQ/-3'. and reverse primer 5'TGGTTCCAGGAGATAT-3).

A formação do primer-dímero foi testada na ferramenta Oligo Analyzer (https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer).

especificidade foi testada usando plataforma NCBI Blast (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast. cgi?PROGRAM=blastn&PAGE TYPE=BlastSearch&LINK LOC=blasthome), limitando as pesquisas de organismos a bovinos, humanos ou babesia. A eficiência da reação foi calculada conforme descrito por Okino et al. (2018) com diluições seriadas (1:10) de 101 a 1010 realizadas para construir uma curva padrão com diferentes concentrações de DNA sintético aBlocks® Gene Fragments (IDT, Coralville, IA, EUA) contendo a sequência de B. bigemina (com base na seguência de 88 pb com número de acesso LK054939.1). Modelos negativos duplicados e controles negativos foram adicionados em cada execução de qPCR.

A reação foi projetada para incluir 10 µL por poço, com 5 µL de TaqMan™ Universal PCR Master Mix (ThermoFisher Scientific), 0,5 µL de cada iniciador (10 µM), 3 µL de MiliQ H₂O e 1 µL de 100 ng/µL de gDNA em duplicata, e água ultrapura foi usada em vez de amostras de gDNA para o controle negativo. Uma curva padrão de cinco pontos (concentrações de 105 a 1010 gBlocks®) foi usada em triplicata como controle interno em cada placa de 96 poços. Para análise das amostras utilizou-se um sistema de PCR em tempo real StepOnePlus™ com ciclo

de ativação de sonda de hidrolase que incluiu 95°C por 10 min, seguido por 45 ciclos de desnaturação a 95°C por 45 s e uma etapa de anelamento/extensão a 60° C por 1 min. O sinal de reação foi registrado durante a etapa de extensão e os dados foram analisados usando StepOne v2.3. As informações mínimas para publicação de experimentos quantitativos de PCR em tempo real (MIQUE) foram seguidas (Bustin et al., 2009). Usando os resultados do gPCR. o número de moléculas de DNA alvo em cada reação foi calculado de acordo com os métodos descritos por Ke et al. (2006).

Anaplasma marginale qPCR

As sequências de primers e a sonda TaqMan foram desenvolvidas de acordo com métodos relatados por Carelli et al. (2007) usando o gene msp1b, que foi produzido pela Integrated DNA Technologies (IDT, Coralville, IA, EUA). A mistura qPCR, calibração da curva e ciclo foram realizados de acordo com Martins et al. (2020).

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico R (R Core Team). Os dados de peso, contagem de carrapatos nos animais, número de cópias de DNA de *A. marginale* e *B. bigemina* e valores de ELISA foram

testados quanto à normalidade usando um teste de Kolmogorov-Smirnov.

Para avaliar a correlação entre número de carrapatos em relação ao peso do animal, número de cópias de DNA de *A. marginale* e *B. bigemina* em relação ao número de carrapatos, utilizou-se o teste não paramétrico de Spearman.

Para comparar o número de cópias de DNA de *A. marginale* e *B. bigemina* e outras variáveis, foram considerados os valores de animais selecionados aleatoriamente (n=8). Os resultados foram considerados significativos quando o valor de p foi igual ou menor que 0,05.

Resultados e discussão

Controle estratégico

O controle de carrapatos em bovinos é complexo e depende de muitos fatores relacionados ao gerenciamento do manejo, tais como: orientação técnica adequada; estratégia do uso da terra no manejo da pecuária; sensibilidade da raça do rebanho bovino a carrapatos; taxa de lotação de bovinos; população de carrapatos e dinâmica de aplicação dos acaricidas com base nos fatores ambientais locais e qualidade da formação da mão de obra no sistema de produção.

Apesar dos problemas de resistência, os acaricidas continuam sendo

uma ferramenta importante como opção para controlar os carrapatos por meio de uso do controle estratégico com base no uso das classes acaricidas existentes, como mostrado no Museu do Carrapato.

O controle estratégico de carrapatos visa reduzir as populações de carrapatos nas pastagens e o controle da TPB; onde o momento da aplicação do acaricida é baseado na ocorrência sazonal de carrapatos com um número sequencial de aplicações para cobrir um período de 105 dias. Os acaricidas são aplicados em momentos estratégicos do ano final da seca para controlar os picos sazonais de abundância de carrapatos. Destina-se principalmente a carrapatos adultos para diminuir os números a níveis em que o dano econômico seja menor do que o custo de controle.

Supor que o controle de carrapatos em bovinos é facilmente realizado pelo uso de acaricidas comprados, sem orientação técnica, associado ao emprego de profissionais com baixa formação, não só deixa de apresentar os resultados econômicos esperados como acelera o desenvolvimento da resistência aos acaricidas, criando desequilíbrios ecológicos, deixando resíduos tóxicos nos produtos de origem animal e contaminando os consumidores e trabalhadores. Com o fraco resultado, o produtor perde a confiança na eficiência dos programas de controle dos carrapatos. Portanto, há uma necessidade urgente de desenvolver abordagens sustentáveis alternativas para o controle de carrapatos e outros parasitas, proposta deste trabalho.

O controle do carrapato precisa ser baseado no conceito da relação custo/ benefício, ou seja, investir em controle sempre quando o tratamento realizado apresenta um custo menor que os prejuizos causados pelos carrapos — limiar econômico - gerando um lucro ao sistema de produção.

O efeito econômico direto (sem considerar a morte ou transmissão de patógenos transmitidos por carrapatos) pode ser estimado para o carrapato *R. microplus* a partir do conhecimento de que cada carrapato é responsável por uma perda de 1 g de peso vivo e 1 ml de leite por dia por bovino (Jonsson, 2006).

Produção de carrapatos nos bovinos da raça Senepol

Neste trabalho, durante o período de um ano, os animais submetidos em sistema de campo com 28 dias no pasto e 84 dias de vazio sanitário, apresentaram peso inicial médio de 190,8 kg e peso final médio de 330 kg, com ganho de peso médio diário de 0,425 gramas durante o período experimental, dentro do esperado pela categoria animal e raça utilizada.

Foi observada uma média de 6,3 carrapatos com intervalo de confiança (IC) de 95% pela contagem do número de carrapatos nos animais (Figura 2) e durante o período experimental não foram observados sinais clínicos de TPB.

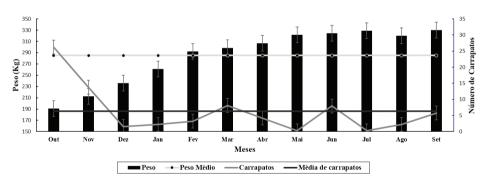


Figura 2. Perfil de peso bovino e média mensal de carrapatos no período de um ano.

Senepol é uma raça *B. taurus* selecionada para produção de carne utilizada como opção de cruzamento no bioma Cerrado, e é descrita como uma raça que apresenta alta sensibilidade aos carrapatos em climas tropicais (Marques, 2003; Piña *et al.*, 2021).

Em estudos anteriores na Embrapa Gado de Corte, a situação de infestação controlada com 15.000 larvas em sistema de teste de estábulo, a raça Senepol produziu uma média de 276 teleóginas ingurgitadas ao final da fase parasitária (Piña et al., 2021). Vale ressaltar que

um único carrapato (fêmea ingurgitada) é capaz de produzir e dar origem a aproximadamente 3.000 larvas, sendo organismos de grande potencial biótico (Balashov, 1972; Oliver 1989).

Em condições de campo, conforme demonstrado no presente trabalho, levando em consideração uma média de 6,3 teleóginas por dia, resultaria em uma infestação de 18.900 larvas, isso significa que proporcionalmente os animais estariam recebendo uma carga de 342 larvas viáveis/dia após o vazio sanitário, que significa uma redução de 98,2% das larvas no pasto – efeito do vazio sanitário de 84 dias (Figura 3).



Figura 3. Larvas do carrapato *Rhipicephalus microplus* na pastagem esperando o hospedeiro.

Neste caso, essas infestações causariam prejuízos consideráveis, tendo em vista que ultrapassam o limite econômico de 40 carrapatos descrito por Gonzales (2003) e, lembrando que, no Brasil o prejuízo causado pelo carrapato chega a 3,24 bilhões de dólares por ano (Grisi *et al.*, 2014).

Lembrando que, inicialmente, os animais são mantidos no piquete durante 28 dias separando os carrapatos na fase parasitária dos bovinos, após 84 dias de vazio sanitário, quando os animais retornaram ao piquete inicial, já havia transcorrido tempo suficiente para que as larvas morressem no ambiente longe do hospedeiro, não oferecendo oportunidade de novas infestações no mesmo nível e retornando ao período de separação entre parasito e hospedeiro.

Portanto, este trabalho mostra com seus resultados uma forma de controle para a fase de larva do carrapato nas pastagens, considerando o efeito do tempo de separação dos carrapatos na fase parasitária associado ao tempo de sobrevivência das larvas sem contato com seu hospedeiro por meio da rotação do pasto. Essa abordagem leva em consideração vários estudos que relataram a longevidade das larvas no ambiente, influenciada pelas condições climáticas, principalmente pela umidade e temperatura do solo (Gauss e Furlong 2002; Wilkinson 1957; Labruna 2008; Cruz et al., 2020).

A experiência de separar o carrapato do hospedeiro, utilizando bovinos da raça Senepol, apesar da sensibildade ao carrapato *R. microplus* (Piña *et al.*, 2021), mostrou-se capaz de reduzir significativamente a população de larvas de carrapato na pastagem, sem o uso de acaricidas, considerando a primeira contagem de fêmeas parcialmente

ingurgitadas no início do experimento (Bonatte Junior *et al.*, 2022).

Aqui os resultados mostraram que durante o período de um ano os animais da raça Senepol não apesentaram miíases em condições de campo. Vale ressaltar que, com a diminuição das infestações de carrapatos, de um modo geral, houve um menor risco de miíases, que além de danificar e desvalorizar o couro, também é uma porta de entrada para infecções secundárias (Reck et al., 2014).

O tempo de definição de separação do hospedeiro do carrapato na fase de vida parasitária de 28 dias no piquete, associado ao tempo de vazio sanitário causado pelo diferimento das pastagens de 84 dias, mostrou-se eficaz para o controle do carrapato em bovinos no bioma Cerrado sem o uso de acaricidas.

Levando em conta que no Brasil a sazonalidade do carrapato R. microplus é bem definida com picos de gerações anuais que variam de 3 a 6 por ano (Labruna 2008, Cruz et al., 2020), neste experimento evidenciou-se que é possível interromper essa dinâmica sem a erradicação total dos carrapatos abaixo do limiar econômico e beneficiando a condição da estabilidade enzoótica na região endêmica para os agentes do TPB. Ao mesmo tempo, ao não utilizar acaricidas permite a manutenção de um refúgio de carrapato sem influência da seleção para a resistência a acaricidas

Perfil da TPB no período sazonal

Resposta imune para TPB

Os resultados no desenvolvimento dos animais com ganho de peso médio diário de 0,425 gramas durante o período experimental mostraram bemestar geral, o que garante organismos saudáveis aptos a desenvolverem uma resposta imune capaz de fazer frente às adversidades do ambiente.

O número de carrapatos diminuiu de uma média inicial de 26,2 carrapatos por animal para 6,3 carrapatos em 84 dias, apresentando uma redução percentual de 75,95% na população de carrapatos, sem o uso de acaricidas. A diminuição da infestação de bovinos por carrapatos não garante a erradicação dos agentes da TPB, mas mantém os animais com um nível de transmissão baixo.

Para verificar esse perfil, 21.6% dos animais. selecionados aleatoriamente. foram submetidos ao teste ELISA para A. marginale e B. bigemina, mostrando que todos os animais apresentaram resposta sorológica para IgG acima do ponto de corte associado a não ocorrência de sinais clínicos nos bovinos durante o período experimental de um ano (Figuras 4 e 5).

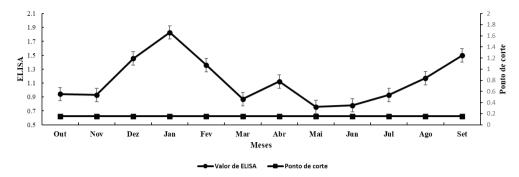


Figura 4. Valores médios dos resultados do ELISA para *A. marginale* em bovinos da raça Senepol.

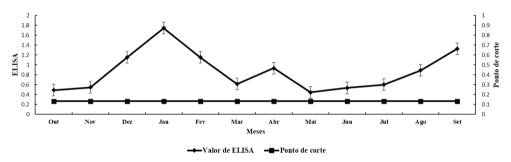


Figura 5. Resultados médios de ELISA para B. bigemina em bovinos da raça Senepol.

Houve uma diferença significativa na contagem de carrapatos entre os meses (P < 0.01) e uma diferença significativa entre o primeiro mês (dia zero) e os outros meses (mês 3, p = 0.000; mês 4, p = 0.000; mês 5, p = 0.000; mês 6, p = 0.000; mês 7, p = 0.000; mês 8, p = 0.000; mês 10, p = 0.000; mês 11, p = 0.000 e mês 12, p = 0.040), demonstrando uma diminuição no número de carrapatos em relação ao número inicial. Houve correlação negativa entre o peso do animal e a contagem de carrapatos (r=-0.252; p=0.000).

Número de cópias de DNA para TPB

O número médio de cópias de DNA de *A. marginale* e *B. bigemina* e o número médio mensal de carrapatos são mostrados nas Figuras 6 e 7 respectivamente. Não houve diferenças significativas nas médias mensais para *A. marginale* e *B. bigemina*.

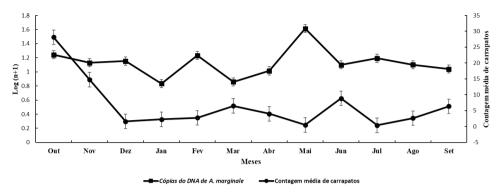


Figura 6. Número de cópias de DNA de A. marginale e carrapatos nos animais da raça Senepol.

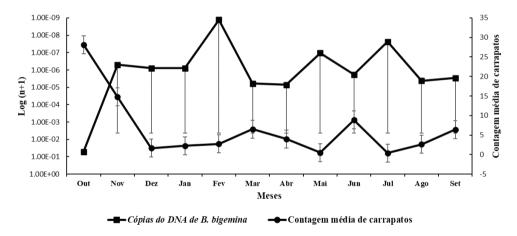


Figura 7. Número de cópias de DNA de B. bigemina e carrapatos nos animais da raça Senepol.

O número de cópias de DNA, resultados de ELISA e número médio de carrapatos relacionados aos agentes *B. bigemina* e *A. marginale* não apresentaram resultados estatisticamente significativos.

O baixo número de carrapatos nos animais durante o experimento concordou com Hernández et al. (2000) que usaram um modelo de simulação da dinâmica da população de carrapatos em um sistema de rotação de pastagens e observaram supressão, mas não erradicação da população de carrapatos.

A presença dos mesmos níveis de *B. bigemina* durante o período mostra na Figura 7 que a quantidade média de 6 carrapatos mantém a transmissão transestadial considerada como uma adaptação específica ao ciclo de vida do carrapato (Chauvin *et al.*, 2009).

Os resultados do teste qPCR foram positivos para todas as amostras de sangue para ambos os hemoparasitos, mas, em ambos os estudos, não foram observados casos clínicos nos animais durante o período experimental.

Estudos anteriores na Embrapa Gado de Corte detectaram *B. bigemina* em todas as amostras de sangue no experimento e não observaram correlação entre o número de cópias e o número de carrapatos contados (Martins *et al.*, 2020).

Também houve variação no número de cópias de *A. marginale*, mas não houve correlação ou queda acentuada no número de carrapatos. Esse achado pode ser explicado pela capacidade desse hemoparasito ser transmitido por outros vetores hematófagos que não carrapatos, como moscas e mosquitos (Aubry e Geale, 2011).

No bioma Cerrado, o período favorável do carrapato começa com o início das chuvas, na primavera, com umidade e temperatura favoráveis Esse período favorece novas gerações de carrapatos a cada 60 dias aproximadamente com a elevação do número de carrapatos nos animais que aumentará a população de larvas no pasto para reinfestação e a circulação dos agentes da TPB, gerando um aumento na transmissão do agente aos bovinos podendo levar a surtos com sintomas e mortalidade.

Esses efeitos recebem influência de outros fatores na infecção por *Babesia*, tais como: raça, idade, condições nutricionais e número de parasitas na infecção circulando no hospedeiro

(Christensson, 1989). Neste trabalho, a raça Senepol, apesar de ser sensível a carrapatos, mostrou que o sistema *Lone Tick* mantém uma baixa infestação de carrapatos e ao mesmo tempo um nível estável de *Babesia* e anticorpos, mostrando uma estabilidade no sistema.

Um fator importante, juntamente com a manutenção de pequenas populações de carrapatos, foi a não necessidade do uso de acaricidas; embora esses tratamentos sejam a principal ferramenta para o controle de carrapatos, eles podem deixar resíduos em produtos de origem animal, bem como contaminação ambiental, dos trabalhadores, surgimento de populações resistentes aos mesmos e, finalmente, com perdas econômicas (Grisi et al., 2014; Kunz e Kemp, 1994; Gunasekara et al., 2007; FAO 2004; Higa et al., 2016).

Dos animais observados foram coletados sangue e fezes para observações laboratoriais. O teste de microhematócrito estava dentro dos parâmetros normais para todos os animais durante o período. O tratamento para endoparasitas foi realizado com Levamisol, 1 mL para cada 20 kg de peso vivo (Ripercol L 7,5%; Zoetis®, Campinas - SP) quando a contagem de OPG era igual ou superior a 400.

Destaca-se também o bom desempenho do ganho de peso médio diário de 0,425 gramas durante o período experimental, demonstrando boa eficiência dentro da categoria animal desta raça.

Nas inspeções clínicas os animais não apresentaram sintomas de febre e nenhum sinal clínico relacionado à TPB, como também a ausência de miíases.

Lembrando que desde o início dos anos 2000, em consequência das discussões sobre mudanças climáticas no mundo, o Brasil sofreu forte impacto negativo com relação à cadeia produtiva da pecuária brasileira. Critérios ambientais estão sendo gradativamente adicionados às exigências de importação de produtos agrícolas (Ruviaro, 2012).

Neste contexto, a mensuração desses impactos ambientais no agronegócio por meio da Análise do Ciclo de Vida – ACV é uma tendência mundial (Claudino, 2013). Tendo como base a cadeia produtiva da carne, a redução da geração de gás carbônico – gás de efeito estufa (GEE)- em algum elo da cadeia reflete diretamente no ACV da carne bovina.

Segundo Ruviaro (2012) há alternativas para mitigar o GEE na pecuária como recuperação de pastagem, plantio direto e substituição de insumos com menor geração de CO₂, ou seja, a redução do uso de acaricidas no controle do carrapato afeta diretamente a mensuração da pegada de carbono na produção de carne.

Os resultados do presente estudo mostram que, a partir do conhecimento da ecologia e da biologia do parasito, é possível controlar populações dessa espécie de carrapato de forma menos impactante atendendo assim à demanda do mercado internacional, que não seria possível se o controle químico fosse usado (De Meneghi *et al.*, 2016).

Segundo os dados, com uma população de carrapatos controlada, o investimento em melhorias genéticas poderia aumentar a produtividade da cadeia produtiva do gado, mesmo entre raças sensíveis ao carrapato *R. microplus*, fortalecendo a tendência de contar com o *B. taurus* nos rebanhos nacionalmente.

Conclusão

Os resultados de um ano de avaliação do Sistema Lone Tick permitiram concluir que, associando um período de pastoreio de 28 dias que promove a separação dos carrapatos na fase de vida parasitária do hospedeiro associado a um tempo de diferimento de pastagem com definição de vazio sanitário de 84 dias gerou uma redução de 98,2% das larvas viáveis no pasto e assegura um controle do carrapato eficaz nos bovinos no pasto sem o uso de acaricidas.

Os resultados para TPB durante um ano de observação apresentaram estabilidade enzoótica com a presença de sorologias positivas em todos os animais e circulação sistêmica dos agentes, sem manifestação de sintomas nos animais. Além disso, os animais não apresentaram miíases e o ganho de peso apresentado foi de acordo com a categoria animal.

Mais estudos são necessários para investigar o uso do Sistema Lone Tick em outros biomas, usando o presente trabalho como base para pesquisas futuras, inclusive com potencial para o uso em sistemas de controle integrado. Avanços na criação de raças mais produtivas e

técnicas ecologicamente corretas de controle de carrapatos podem agregar valor à pecuária de corte por meio da sustentabilidade.

Referências

ALVES, A. J.; SOUZA FILHO, S. D.; OLIVEIRA, H. M.; CARVALHO NETO, J. L. Determinação de Microhematócritos em Centrífuga Convencional. **Revista Brasileira de Análise Clínica**, v.18, p. 47-48. 1986.

ANDREOTTI R.; BARROS, J. C.; GARCIA, M. V.; RODRIGUES, V.S.; HIGA, L. O. S.; DUARTE, P.O.; BLECHA, I. M. Z.; BONATTE-JUNIOR, P. Cattle tick infestation in Brangus cattle raised with Nellore in central Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.39, p. 1099–113, 2018.

ANTUNES, S.; ROSA, C.; COUTO, J.; FERROLHO, J.; DOMINGOS, A. Deciphering babesia-vector interactions. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 1–8, 2017

ASSIS, J. P. Testes de hipoteses estatisticas / Janilson Pinheiro de Assis, Roberto Pequeno de Sousa, Paulo Cesar Ferreira Linhares— Mossoro: EdUFERSA, 2020. 182 p.:ll. Disponível: https://livraria.ufersa.edu.br/wp-content/uploads/sites/165/2020/08/testes-de-hipoteses-estatisticas-edufersa.pdf.

AUBRY, P.; GEALE, D. W. A review of bovine anaplasmosis. **Transboundary and Emerging Disease**, v. 58, n. 1, p. 1-30. 2011. http://dx.doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010. 01173.x

BALASHOV, Y. S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - Vectors of diseases of man and animals.

Miscellanous Publications Entomological

Society of America, v. 8, p. 161-376. 1972

BONATTE-JUNIOR, P.; BARROS, J. C.; MACIEL, W. G.; GARCIA, M. V.; HIGA, L. O. S.; ANDREOTTI, R. Control Strategies for the Tick *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) on Cattle: Economic Evaluation and Report of a Multidrug-Resistant Strain. **Acta Parasitologica**, v. 67, p. 1564–1572, 2022. https://doi.org/10.1007/s11686-022-00611-8 1 3.

BUSTIN, A. S.; BENES, V.; GARSON, E. J.; HELLEMANS, L.; HUGGETT, J.; KUBISTA, M.; MÜLLER, R.; NOLAN, T.; PFAFFL, M. W.; SHIPLEY, G. L.; VANDESOMPELE, J.; WITTWER, C. T. The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry**, v. 55, p. 611-22. 2009. https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797.

CARELLI, G.; DECARO, N.; LORUSSO, A.; ELIA, G.; LORUSSO, E.; MARI, V.; CECI, L.; BUONAVOGLIA, C. Detection and quantification of *Anaplasma marginale* DNA in blood samples of cattle by real-time PCR. **Veterinary Microbiology**, v. 124, n. 1-2, p. 107-14. 2007. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.03.022.

CHAUVIN, A.; MOREAU, E.; BONNET, S.; PLANTARD, O.; MALANDRIN, L. Babesia and its hosts: Adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. **Veterinary Research**, v. 40, p. 37. 2009.

CHRISTENSSON, D. A. Inverse age resistance to experimental *Babesia divergens* Infection in Cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 30, p. 453-464. 1989.

CLAUDINO, E. S.; TALAMINI, E. Life Cycle Assessment (LCA) applied to agribusiness: a review. Gestão e Controle Ambiental. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiente**, v. 17 (1). 2013. https://doi.org/10.1590/ S1415-43662013000100011.

COHEN, L.; MANION, L.; MORRISON, K. Research Methods in Education. Abingdon, Oxon: Routledge. P. 628. 6a edição. 2018.

CRUZ, B. C.; MENDES, A. F. L.; MACIEL, W. G.; SANTOS, I. B.; GOMES, L. V. C.; FELIPPELLI, G.; TEIXEIRA, W. F. P.; FERREIRA, L. L.; SOARES, V. E.; LOPES, W. D. Z.; COSTA, A. J.; OLIVEIRA, G. P. Biological parameters for *Rhipicephalus microplus* in the field and laboratory and estimation of its annual number of generations in a tropical region. **Parasitology Research**, v. 119, p. 2421-2430. 2020.

DE MENEGHI, D.; STACHURSKI, F.; ADAKAL, H. Experiences in tick control by acaricide in the traditional cattle sector in Zambia and Burkina Faso: possible environmental and public health implications. **Frontiers in Public Health**, v. 4, p. 239. 2016.

DI PIETRO, F.; ORTENZI, F.; TILIO, M.; CONCETTI, F.; NAPOLIONI, V. Genomic DNA extraction from whole blood stored from 15- to 30-years at -20 °C by rapid phenol-chloroform protocol: A useful tool

for genetic epidemiology studies. **Molecular and Cellular Probes**, v. 25, n. 1, p. 44-48. 2011. https://doi.org/10.1016/j.mcp.2010.10.003.

FAO. Food and Agriculture Organization.
Resistance management and integrated parasiste control in ruminants: guidelines. Roma: Food and Agriculture Organization, Animal Production and Health Division. 2004

FAO. 2022. Expert consultation on the sustainable management of parasites in livestock challenged by the global emergence of resistance – Part 1: Current status and management of acaricide resistance in livestock ticks,9–10 November 2021. FAO Animal Production and Health Report No. 17. Rome. https://doi.org/10.4060/cc2981en

GAUSS, C. L. B.; FURLONG, J. Comportamento de larvas infestantes de *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Ciência Rural**, v. 32, p. 46-472. 2002.

GONZALES, J. C. O controle do carrapato do boi. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, RS. 2003

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v.12, p. 50–2. 1939.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R.; BARROS, A. T.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H.; PÉREZ DE LEÓN, A. A.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 150–6. 2014.

GUNASEKARA, A. S.; TRUONG, T.; GOH, K. S.; SPURLOCK, F.; TJEERDEMA, R. S. Environmental fate and toxicology of fipronil. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, p. 189–99. 2007.

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**. v. 82-83, p. 349–60. 2004.

HERNÁNDEZ, A. F.; TEEL, P. D.; CORSON, M. S.; GRANT, W.E. Simulation of rotational grazing to evaluate integrated pest management strategies for *Boophilus microplus* (Acari: ixodidae) in Venezuela. **Veterinary Parasitology**, v. 92, p. 139-49. 2000.

HIGA, L. O. S.; GARCIA, M. V.; BARROS, J. C.; KOLLER, W. W.; ANDREOTTI, R. Evaluation

of Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) resistance to different acaricide formulations using samples from Brazilian properties. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 25, p. 163–71. 2016.

HOMER, M. J.; AGUILAR-DELFIN, I.; TELFORD, S. R.; KRAUSE, P. J.; PERSING, D. H. Babesiosis. **Clinical Microbiology**, v. 13, p. 451-469, 2000.

KE, G. M.; CHENG, H. L.; KE, L. Y.; JI, W. T.; CHULU, J. L.; LIAO, M. H.; CHANG, T. J.; LIU, H. J. Development of a quantitative Light Cycler real-time RT-PCR for detection of avian reovirus. **Journal of Virological Methods**, v. 133(1), p. 6-13. 2006. http://dx.doi:10.1016/j.jviromet.2005.09.011. Epub 2005.

JONSSON, N. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. **Veterinary Parasitology**, V. 137, 1-10. 2006. http://dx.doi:10.1016/j. vetpar.2006.01.010.

KUNZ, S. E.; KEMP, D. H. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. **Revue Scientifique et Technique**, v. 13, p. 1249–86. 1994. https://doi.org/10.20506/rst.13.4.816.

LABRUNA, M. B. As gerações anuais. In: Pereira, M. C.; Labruna, M. B.; Szabó, M. P. J.; Klafke, G. M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: biologia, controle e resistência. São Paulo: MedVet, p. 169. 2008.

MARQUES, D. C. *Criação de Bovinos*. Belo Horizonte, CVP. **Consultoria Veterinária e Publicações**, p. 659. 2003.

MARTINS, K, R.; GARCIA, M. V.; BONATTE-JUNIOR, P.; DUARTE, P. O.; HIGA, L. O. S.; CSORDAS, B. G.; ZIMMERMANN, N. P.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, R. Correlation between *Rhipicephalus microplus* ticks and *Anaplasma marginale* infection in various cattle breeds in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 81, 1-14. 2020.

NUÑES, J. L.; MUÑOZ COBENAS, M. E.; MOLTEDO, H. L. *Boophilus microplus*, la garrapata comum del ganado vacuno. **Buenos Aires: Hemisfério Sur**. 1982.

OKINO, C. H.; GIGLIOTI, R.; SILVA, M.; OLIVEIRA, H. N.; OLIVEIRA, M. C. S. Comparative evaluation of DNA extraction kit, matrix sample and qPCR assays for bovine babesiosis monitoring. **Molecular Biology Reports**, v. 45, p. 2671–2680, 2018. https://doi.org/10.1007/s11033-018-4436-9.

OLIVER JR, J.H., 1989. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodida). **Annual Review of Ecology Systematics**, *v. 20*, p. 397-430.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFKE, G. M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (biologia, controle e resistência). **São Paulo: MedVet**. p. 169, 2008.

PIÑA, F. T. B.; ZIMMERMANN, N. P.; GARCIA, M.V.; HIGA, L. O. S.; OSHIRO, L. M.; DUARTE, P. O.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, R. Sensitivity of Senepol and Caracu breeds to parasitism by *Rhipicephalus microplus*. Systematic and Applied Acarology, v. 26(5), p. 954–961. 2021. https://doi.org/10.11158/saa.26.5.10.

R Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

RECK, J.; KLAFKE, G. M.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSSINI, V. B.; VARGAS, R.; SANTOS, J. S.; MARTINS, J. R. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. Veterinary Parasitology, v. 201, p. 128–36. 2014.

RIBEIRO, A. B.; TINOCO, A. F. F.; LIMA, G. F. C.; GUILHERMINO, M. M.; RANGEL, A. H. N. Produção e composição do leite de vacas Gir e Guzerá nas diferentes ordens de parto. **Revista Caatinga**, v. 22, p. 46–51. 2009.

RUVIARO, C. F.; GIANEZINI, M.; BRANDÃO, F. S.; WINCK, C. A.; DEWES, H. Life cycle assessment in Brazilian agriculture facing worldwide trends. **Journal of Cleaner Production**, v.28, p.9-24. 2012.

WAINER, J. Experimento em sistemas colaborativos. In: Sistemas Colaborativos, Pimentel, M.; Fuks, H. (Org.) Editora Sociedade Brasileira de Computação/Elsevier. 2011 Disponível: https://sistemascolaborativos.uniriotec.br/experimento-em-sistemas-colaborativos/.

WEST, J. W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.86, p. 2131–44. 2003.

WHARTON, R. H.; UTECH, K. B. W. The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (Casnestrini) (Ixodidae) to the assessment of the tick numbers on cattle. **Journal of the Australian Entomological Society**, v. 9 (3), p. 171-182. 1970.

WILKINSON, P. R. The spelling of pasture in cattle tick control. **Australian Journal Agricultural Research**, v.8, p. 414-423. 1957.

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte Av. Rádio Maia, 830 79106-550, Campo Grande, MS Fone: (67) 3368-2000 www.embrapa.br www.embrapa.br/fale-conosco/sac

> 1ª edição 1ª edição (2023): eletrônica



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA



Comitê Local de Publicações da Embrapa Gado de Corte

Presidente Rodrigo Amorim Barbosa Secretário-Executivo Rodrigo Carvalho Alva

Membros Alexandre Romeiro de Araújo, Davi José Bungenstab, Fabiane Siqueira, Gilberto Romeiro de Oliveira Menezes, Luiz Orocício Fialho de Oliveira, Marcelo Castro Pereira, Mariane de Mendonça Vilela, Marta Pereira da Silva, Mateus Figueiredo Santos, Vanessa Felipe de Souza

> Supervisão editorial Rodrigo Carvalho Alva

> Revisão de texto Rodrigo Carvalho Alva

Tratamento das ilustrações Rodrigo Carvalho Alva

Projeto gráfico da coleção Carlos Eduardo Felice Barbeiro

> Editoração eletrônica Rodrigo Carvalho Alva

> > Foto da capa Renato Andreotti