

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Aspectos epidemiológicos das infecções por *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em  
bovinos de leite na ilha de São Luís - MA

Francisco Borges Costa

São Luís – MA

2009

Francisco Borges Costa

Aspectos epidemiológicos das infecções por *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos de leite na ilha de São Luís - MA

Dissertação apresentada como  
requisito para obtenção do grau de  
Mestre em Ciências Veterinárias.

**Área:** Sanidade Animal

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita de Maria Seabra Nogueira Candanedo Guerra

São Luís – MA

2009

Costa, Francisco Borges

Aspectos epidemiológicos das infecções por *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos de leite na ilha de São Luís - MA / Francisco Borges Costa. – São Luís, 2009.

57f.

Dissertação (Mestrado) – Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão, 2009.

Orientadora: Profa. Dra. Rita de Maria Seabra Nogueira de Candanedo Guerra.

1. Protozoa 2. *Babesia* 3. Maranhão I. Título

CDU: 636.2.082:591.164(812.1)

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Dr. Gilberto Salles Gazêta

1° Membro

---

Dra. Ana Clara Gomes dos Santos

2° Membro

---

Dra. Rita de Maria Seabra Nogueira de Candanedo Guerra

Orientadora

Dedico esta dissertação a minha família,  
especialmente a meus pais Antonio Tavares Costa e  
Maria Fagunda Borges Costa, aos meus irmãos  
Galton Fagno, Ana Suene, Antonio Filho e Costa Neto  
e com todo carinho e amor à minha esposa  
Andréa Pereira da Costa.

## AGRADECIMENTOS

Neste dia especial, agradeço a DEUS, pela família que fui abençoado, pela saúde que nunca me faltou e pela Fé que me sustentou até aqui, me consolando nas horas difíceis e me fortalecendo quando errei.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita de Maria Seabra Nogueira de Candanedo Guerra por quem sinto uma amizade, pela atenção, admiração e dedicação dispensada nesses dois anos de convivência. Por entender minhas dificuldades, por me ensinar com atitudes e palavras que a ética e a responsabilidade são características essenciais em qualquer profissional.

Ao Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra, pela admiração, respeito e carisma, pelas palavras dispensadas e dicas de quem tem experiência na arte de escrever.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Clara Gomes dos Santos, pelo perfil de pesquisadora, no qual me espelho no meu dia-a-dia.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Abreu Silva pela valiosa contribuição dada durante o mestrado, pela persistência de ver a Universidade Estadual do Maranhão – UEMA cada vez melhor.

Aos professores, em especial Hamilton Pereira dos Santos do Curso de Medicina Veterinária/UEMA.

Agradeço muito, a contribuição de Solange Araújo Melo pela amizade, carinho e diferenças que sempre recarregaram minhas energias quando tudo estava muito difícil.

À secretária do mestrado em Ciências Veterinárias, Caroline Romão, pela ajuda dada quando eu estava por perto e por longe da qual sentirei falta.

À minha turma de Pós-graduação que me proporcionaram momentos inesquecíveis na nossa incrível convivência. Em especial, Vívian Magalhães Brandão, por ter dividido a solidão e a saudade quando estávamos em São Paulo-SP.

Aos amigos de São Paulo-SP, Carlos Eduardo (Cadu), Matheus Tajra, Flávio Ribeiro, e em especial, Leandro Fadel por ter me acolhido em sua casa.

Aos meus amigos, Dr. Flávio Ribeiro de Araújo, Dr. Cleber Oliveira Soares da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande - MS, em especial, Carlos Alberto do Nascimento Ramos e sua esposa pela amizade e momentos de descontração.

Aos colegas Simone (Zootecnista) e Gaúcho (Veterinário) da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande – MS pelo convívio no alojamento.

Aos amigos do Laboratório de Parasitologia, Whaubtyfran, Verônica, Arannádia, Edvaldo e Elisivânia.

Aos meus colegas, em especial Adriana Vívian Costa Araújo acadêmica do curso de medicina veterinária/UEMA.

Aos veterinários, Danilo Cutrim Bezerra e esposa pelas coletas no interior do estado do Maranhão que nos renderam valiosos artigos.

À Universidade Estadual do Maranhão, na pessoa do reitor Prof. MSc. José Augusto Oliveira.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado do Maranhão (FAPEMA), pela bolsa de estudo concedida.

COSTA, F. B. **Aspectos epidemiológicos das infecções por *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA.** [Epidemiological aspects of infections for *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in dairy bovine of the São Luís Island – MA]. 2009. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

## **RESUMO**

O trabalho teve por objetivo estudar a soroprevalência da babesiose bovina na ilha de São Luís, estado do Maranhão, obter informações sobre a situação da doença na população e relacionar os resultados obtidos com informações inerentes aos animais e as propriedades. A detecção de anticorpos anti-*Babesia bovis* e anti-*Babesia bigemina* foi realizada por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA). Foram amostrados bovinos de propriedades dos municípios de São Luís, Raposa, São José de Ribamar e Paço do Lumiar. Coletou-se 281 amostras de sangue, número estatisticamente representativo para a população da área em estudo. Do total de amostras 262 (93,2%) e 275 (97,9%) foram soros reagentes para *B. bovis* aos testes de RIFI e ELISA, respectivamente. Para *B. bigemina*, 264 (94%) foram soros reagentes pela RIFI e 275 (97,9%) pelo ELISA. Não houve diferença estatística significativa entre os dois métodos realizados. O exame parasitológico através do esfregaço sanguíneo detectou 22 (7,8%) de positividade para ambas as espécies de protozoário. Foi possível concluir que, apesar das práticas de manejo, os animais foram expostos a *B. bovis* e *B. bigemina* e encontrou-se em situação de estabilidade enzoótica para babesiose, portanto a área estudada oferece risco de perdas econômicas na introdução de animais suscetíveis procedentes de região de instabilidade enzoótica ou livres.

Palavras – Chave: Protozoário, *Babesia*, Maranhão



COSTA, F. B. **Aspectos epidemiológicos das infecções por *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA.** [Epidemiological aspects of infections for *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in dairy bovine of the São Luís Island – MA]. 2009. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

## **ABSTRACT**

This research was aimed to study seroepidemiological aspects of bovine babesiosis at the São Luís Island, State of Maranhão, as well as obtain information about the disease situation in the population and relate the results with management information. The detection of antibodies against *B. bovis* and *B. bigemina* was carried out by the indirect fluorescent antibody Test (IFAT) and by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Bovine blood samples were collected from animal of São Luís, Raposa, São José de Ribamar and Paço do Lumiar. A total of 281 blood samples were collected, this number was determined by a mathematical model. From the total of samples 262 (93.2%) and 275 (97.9%) were seropositive for *B. bovis* by IFAT and ELISA, respectively. For *B. bigemina*, 264 (94%) of the samples were seropositive by IFAT and 275 (97.9%) by ELISA. There wasn't significant statistical difference between these methods. The parasitological exam through blood smear detected 22 (7.8%) of seropositive animals. It was possible to conclude that despite of the management the animals were exposed to *B. bovis* and *B. bigemina* and they are in a situation of enzootic stability for babesiosis, which indicate a risk of economic losses when susceptible animals from enzootic instability or free regions are introduced in the studied area.

Key – words: Protozoário, *Babesia*, Maranhão

## SUMÁRIO

	Páginas
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Agente Etiológico	17
2.2 Vetor	17
2.3 Hospedeiro	19
2.4 Ciclo Biológico – <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i>	19
2.5 Imunologia – <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i>	21
2.6 Epidemiologia	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Área de Estudo	26
3.2 Amostragem	27
3.3 Aplicação de Questionário	27
3.4 Coleta de Sangue	28
3.5 Avaliação Sorológica dos Animais	28
3.5.1 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i>	28
3.5.2 Ensaio de Imunoadsorção Enzimática (ELISA) para <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i>	28
3.6 Avaliação Parasitológica dos Animais	29
3.6.1 Esfregaço Sanguíneo	29
3.7 Análise Estatística	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 Prevalência de amostras soro reagentes a reação de imunofluorescência indireta (RIFI)	31

4.2 Prevalência de amostras soro reagentes ao Ensaio de Imunoadsorção Enzimática (ELISA)	35
4.3 Amostras Positivas nos Esfregaços Sanguíneos	39
4.4 Índice de Parasitemia	41
5 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44
ANEXO	56

## LISTA DE TABELAS

Páginas

Tabela 1 – Prevalência de <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i> detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através da Reação de Imunofluorescência Indireta, segundo sexo, raça e idade.	33
Tabela 2 – Prevalência de <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i> detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através da Reação de Imunofluorescência Indireta, segundo fatores inerentes as propriedades.	35
Tabela 3 – Prevalência de <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i> detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através do Ensaio de Imunoadsorção Enzimática, segundo sexo, raça e idade.	36
Tabela 4 – Prevalência de <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i> detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através do Ensaio de Imunoadsorção Enzimática, segundo fatores inerentes as propriedades.	38
Tabela 5 – Positividade de <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i> detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através do Esfregaço Sanguíneo, segundo sexo, raça e idade.	40
Tabela 6 – Positividade de <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i> detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através do Esfregaço Sanguíneo, segundo fatores inerentes as propriedades.	41
Tabela 7 – Índices de parasitemia de <i>Babesia bovis</i> e <i>Babesia bigemina</i> detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, examinados em 50 campos microscópicos.	42

## LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Vista espacial da ilha de São Luís – MA, em detalhes os municípios de São Luís, Raposa, Paço do Lumiar e São José de Ribamar.	26
Figura 2 – Temperatura média (°C), umidade relativa do ar (%) e precipitação pluviométrica acumulativa diária (mm) no período de março/2007 a fevereiro/2008, ilha de São Luís, Maranhão.	27
Figura 3. Etapas da realização do Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA).	29
Figura 4. Realização do esfregaço sanguíneo.	29

## LISTA DE ABREVIATURAS

	Páginas
IFN - Interferon	21
IgG - Imunoglobulina G	21
IL - Interleucina	21
TNF - Fator de Necrose Tumoral	21
CNPGC - Centro Nacional de Pesquisa Gado de Corte	28
EDTA - Etilenodiaminocetato	28
EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária	28

## 1 INTRODUÇÃO

Os hemoparasitos constituem um amplo grupo que afeta os animais domésticos e silvestres e incluem vários gêneros dentre eles: *Babesia*, *Hepatozoon*, *Trypanosoma*, *Plasmodium*, *Cowdria*, *Theileria*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* e *Mycoplasma*. As infecções por estes parasitos assumem importância na saúde animal por ocasionarem patologias variadas, podendo inclusive levar a morte, além da possibilidade da transmissão zoonótica. *Babesia* spp. e *Anaplasma marginale* são responsáveis por grandes impactos econômicos na indústria leiteira de regiões tropicais (BOCK et al., 2004; KOCAN et al., 2004; DUBEY et al., 2007).

No Brasil e demais países da América Latina a babesiose bovina é causada por duas espécies, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, protozoários da ordem Eucoccidiorida, família Babesiidae (LEVINE, 1988). São patógenos transmitidos, principalmente, pelas formas jovens do carrapato *Boophilus microplus*, constituindo-se entre os principais problemas sanitários dos rebanhos bovinos de corte e de leite (WRIGHT & GOODGER, 1988), causando graves prejuízos econômicos para a bovinocultura, observados sob a forma de mortalidade, gastos com medicamentos, diminuição na produção de leite e carne, atraso no ritmo de crescimento dos bezerros e gasto com vacinações ou premunicação (MASSARD & FREIRE, 1985). As maiores perdas econômicas referentes à babesiose bovina ocorrem em áreas de instabilidade enzoótica ou por ocasião da transferência de animais destas, ou de áreas livres, para outras cuja situação epidemiológica seja de estabilidade. Estudos epidemiológicos realizados no Brasil têm caracterizado determinadas regiões como áreas de estabilidade enzoótica, com prevalência sorológica acima de 80%, para *B. bovis* e *B. bigemina*, assim como regiões de instabilidade para ambos agentes. Entre outras provas sorológicas, a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) são as mais utilizadas para estudos epidemiológicos desta enfermidade sendo a concordância dos resultados destes dois métodos sido comprovada através de pesquisas científicas.

A babesiose é uma doença de importância na clínica de bovinos, pois o aspecto patogênico mais relevante é a grave anemia que pode levar a alto percentual de morbidade e mortalidade em rebanhos não imunes. Nos locais onde o desenvolvimento do *B. microplus* é limitante, como algumas microrregiões do Nordeste, Sudeste e Sul, e a transmissão é irregular, situações de instabilidade enzoótica se instalam. Nestas áreas a taxa de inoculação de *Babesia* spp. pelos carrapatos nos animais jovens é baixa ou irregular, permitindo que alguns animais cheguem à idade adulta sem o desenvolvimento de imunidade ocorrendo surtos de babesiose (MCCOSKER, 1981; BARCI et al., 1994; RIBEIRO & PASSOS, 2002).

Para se determinar o perfil de estabilidade/instabilidade de uma região, deve-se avaliar os fatores inerentes ao animal, como por exemplo, a queda de imunidade devido à redução do número de carrapatos, e os vários fatores que podem estar interagindo no ambiente. Dentre eles, raça, idade, variações climáticas, estresse, manejo e tipo de pastagens (ALONSO et al., 1992).

Os estudos sorológicos são importantes não só para o monitoramento da babesiose, como para a adoção de estratégias adequadas de controle (OSAKI et al., 2002) e a detecção de anticorpos anti-*Babesia* spp. pode ser realizada por diferentes testes sorológicos sendo a RIFI e o ELISA métodos sensíveis e específicos, que colaboram para o avanço dos estudos epidemiológicos (JULIANO et al., 2007).

Tendo em vista esta realidade, a escassez de estudos sobre a infecção bovina por *Babesia* spp. e o fato de que vários métodos podem ser aplicados para o diagnóstico desta infecção objetivou-se conhecer a prevalência da infecção por *B. bovis* e *B. bigemina* na população de bovinos de leite da ilha de São Luís - MA.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Agente Etiológico

No final do século XIX, Victor Babés começou a investigar uma enfermidade com um quadro de anemia hemolítica (hemoglobinúria enzoótica bovina) que acometia bovinos no Velho Mundo, com a presença de microorganismos no interior de eritrócitos dos animais doentes. Victor Babés então, no ano de 1888, denominou esses microorganismos de *Haematococcus bovis* (UILENBERG, 2006). Em 1893, Smith e Kilborne ao pesquisarem a “Febre dos Texas” identificaram um parasito semelhante ao encontrado por Victor Babés, denominando-o de *Babesia bigemina*, além de comprovarem que este agente era transmitido pelo *Boophilus annulatus*. Ainda no ano de 1893, Starcovici verificou a similaridade entre os organismos descritos por Victor Babés, na Romênia, e Smith & Kilborne nos Estados Unidos, propondo a inclusão de ambos em um novo gênero denominando-o de *Babesia*, em homenagem ao pesquisador romeno (UILENBERG, 2006).

*Babesia* spp. são os únicos parasitas entre o Apicomplexa que invadem e se replicam exclusivamente dentro dos eritrócitos, enquanto parasitas do gênero *Plasmodium* e *Theileria* infectam células nucleadas (BROWN et al., 2006).

O gênero *Babesia* possui 73 espécies parasitando diferentes hospedeiros, tais como bovinos, caprinos, ovinos, caninos e roedores (FRIEDHOFF, 1981), sendo que somente oito espécies (*B. bigemina*, *B. bovis*, *B. beliceri*, *B. divergens*, *B. jakimovi*, *B. major*, *B. occultans*, e *B. ovata*) são capazes de infectar bovinos (UILENBERG, 2006), *B. bigemina* e *B. bovis* são encontradas no Brasil (GUGLIELMONE, 1995; VIDOTTO et al., 1995).

### 2.2 Vetor

O *B. microplus* adaptou-se perfeitamente ao clima dos países tropicais, onde o calor e a umidade propiciaram condições favoráveis à sobrevivência e manutenção da espécie (POWEL & REID, 1982), tornando-se o mais importante ectoparasito das regiões tropicais e subtropicais (CASTRO & NEWSON, 1993) atingindo mais de 75%

da população mundial de bovinos (CORDOVÉS, 1997). Nos países situados entre os paralelos 35° Norte e 35° Sul, *B. microplus* é a espécie de maior distribuição geográfica e importância econômica (DAVEY et al., 1984), sendo o território brasileiro potencialmente favorável à sua sobrevivência (SOUZA et al., 1997), uma vez que as características climáticas favorecem o desenvolvimento na maioria dos meses do ano (EVANS, 1992). Esta espécie foi encontrada parasitando bovinos, caprinos e eqüinos em estudos sobre ixodofauna de mamíferos domésticos da ilha de São Luís, estado do Maranhão (BRITO & GUERRA, 2004).

Os prejuízos econômicos causados pelo *B. microplus* na América do Sul por transmitir *Babesia* spp. é um problema sanitário de maior impacto econômico para a bovinocultura devido aos altos índices de morbidade e mortalidade. Além dos custos para combater esse ectoparasito, existem as perdas produtivas, pois os animais apresentam diminuição na produção de leite e carne, além de problemas reprodutivos, como aborto e diminuição da fertilidade (MARTINS, 2005).

O ciclo biológico *B. microplus* se desenvolve em duas fases: a de vida livre e a parasitária. A primeira inicia-se após a queda da teleógina com o período de pré-postura se estendendo até a eclosão dos ovos e a muda das neolarvas em larvas infestantes (GONZALES, 1974). A fase de vida parasitária inicia-se quando a larva infestante instala-se no hospedeiro sofrendo muda para metalarva, seguida da fase de ninfa, na qual já há diferenciação sexual. Logo após, ocorre a muda para partenógina e, finalmente, teleógina (GONZALES, 1975).

Na fase de vida livre são necessários aproximadamente de três dias para a pré-postura; de três a seis semanas para a postura; de 22 a 30 dias para a emergência das larvas e de dois a três dias para o fortalecimento da cutícula, quando mudam para larvas infestantes, enquanto que, a fase parasitária leva em média 18 a 26 dias para a fixação, alimentação, troca de cutícula, fase adulta e cópula, assim como para ingurgitamento e queda das fêmeas segundo Furlong (1993). Os machos permanecem mais tempo sobre o bovino e copulam com várias fêmeas. Vale ressaltar que a fase de vida livre sofre interferências climáticas, trazendo alterações nos seus períodos, que

são especialmente afetados pela umidade e temperatura. Por outro lado, a fase de vida parasitária é praticamente constante em todas as regiões (GONZALES, 1975).

### **2.3 Hospedeiro**

O bovino é o hospedeiro preferencial do *B. microplus*, sendo que as maiores infestações ocorrem em *Bos taurus* e as menores em *Bos indicus* (GONZALEZ, 1974). As raças bovinas se comportam de modo diverso frente às infestações por carrapatos, enquanto as raças européias são mais sensíveis, as raças zebuínas apresentam uma resistência de caráter genético muito maior (GOMES, 1998; JONSSON et al., 2000). Considerando a infecção por *Babesia* sp., os animais jovens são naturalmente mais resistentes, apresentando uma maior abundância de células T, correspondendo a 70% dos linfócitos T circulantes (BROWN, et al., 2006). No entanto, Madruga et al. (1984) verificaram que no período entre 28 a 56 dias após o nascimento, para *B. bigemina* e 84 a 112 dias, para *B. bovis*, os títulos de anticorpos são baixos, aumentando a probabilidade dos animais a desenvolverem a babesiose de forma aguda.

A maioria dos estudos em relação aos bovinos sobre aquisição de resistência avalia o fenômeno em raças taurinas que, embora desenvolvam imunidade, não controlam as infestações com a mesma eficiência das raças zebuínas (NORVAL, 1992; MATTIOLI & CASSMA, 1995; MELTZER, 1996; MATTIOLI, 1998; WAMBURA et al., 1998; MATTIOLI et al., 2000).

A transmissão congênita de *B. bovis* pode ocorrer durante a gestação como relatado no Paraná por Bracarense et al. (2001) em uma fêmea mestiça da raça Holandesa com Pardo Suíço cujo bezerro veio a óbito após o nascimento, sendo o diagnóstico da infecção confirmado pela visualização de merozoítos característicos em eritrócitos de capilares cerebrais impressos de fragmentos de cérebro e cerebelo fixados em lâminas e coradas pelo Giemsa.

### **2.4 Ciclo Biológico – *Babesia bovis* e *Babesia bigemina***

O ciclo da *Babesia* é complexo e envolve o vetor, o agente etiológico e o hospedeiro (MELENDEZ & FORLANO, 1996). A infecção dos vetores por *B. bovis* e *B.*

*bigemina* ocorrem durante a hematofagia das teleóginas em animais com parasitemia, após o repasto sanguíneo das fêmeas de *B. microplus* com eritrócitos parasitados, os merozoítas sofrem alterações morfo-fisiológicas adaptativas se preparando para o início da reprodução sexuada (FRIEDHOFF, 1988), esta fase é chamada de gametogonia com formação e fusão dos gametas no intestino do carrapato (HOMER et al., 2000).

Os gametas formam pares, fundem-se no lúmen intestinal do vetor, formando uma célula esférica conhecida por zigoto e diferenciam-se em oocinetos (YOUNG & MORZARIA, 1986), estes infectam seletivamente uma célula especial do epitélio do intestino do carrapato, as células basófilas, onde ocorre a divisão assexuada por fissão múltipla, originando formas móveis conhecidas como esporocinetos (FRIEDHOFF, 1988). Estes são maiores, móveis e em forma de arco e são liberados na hemocele (MOSQUEDA et al., 2004) invadem vários órgãos do carrapato, iniciando múltiplos ciclos de esporogonia, que se estendem até a morte da teleógina (BOCK et al., 2004). Desse modo, *B. bovis* e *B. bigemina* são capazes de infectar a progênie de teleóginas, sendo essa via de infecção chamada de transovariana. Quando os ovos são infectados, vários ciclos de esporogonia ocorrem nos embriões e larvas, culminando com a presença de inúmeros esporozoítas nas glândulas salivares dos carrapatos jovens (BOCK et al., 2004), onde se diferenciam em esporozoítas infectivos, necessitando para isso de estímulos nutricionais ou térmicos (temperatura aproximada de 37°C) (DALGLIESH & STEWART, 1978).

A inoculação no bovino de *B. bovis* ocorre quando o carrapato está na fase de larva e a de *B. bigemina* ocorre quando o carrapato está na fase de ninfa (RIEK, 1964; RIEK, 1966). Após a inoculação do esporozoíta no hospedeiro vertebrado, ocorre diretamente a penetração nos eritrócitos, por um processo ativo em cinco etapas: I – contato entre o esporozoíta e o eritrócito a ser infectado; II – orientação do complexo apical para a superfície do eritrócito; III – fusão das membranas do esporozoíta e eritrócito; IV – eliminação do conteúdo das roptrias; e V – invaginação da membrana do eritrócito e entrada do esporozoíta (YOUNG & MORZARIA, 1986). Ocorrendo inicialmente a formação de trofozoítos uninucleados, que têm contato direto com o

citoplasma eritrocítico, seguido de replicação do DNA nuclear por fissão binária, resultando em dois merozoítos (MACKENSTEDT et al., 1995). A infecção do carrapato depende da carga parasitária no sangue do hospedeiro bovino (RIEK, 1964).

## **2.5 Imunologia – *Babesia bovis* e *Babesia bigemina***

O entendimento dos mecanismos de resistência dos animais jovens com infecção aguda por *B. bovis* (imunidade inata) e do controle de parasitemia para nível persistente em gado adulto (imunidade adaptativa), é importante para elaborar estratégias de controle que permitam induzir uma resposta imunológica protetora pela vacinação (BROWN et al., 2006). Estes mecanismos que envolvem respostas imunológicas não-específicas são responsáveis pelo bloqueio da multiplicação dos microrganismos do gênero *Babesia* em bovinos, pois existem constatações de controle de parasitemia (características inatas) antes da produção de anticorpos como fatores genéticos, fisiológicos e bioquímicos (MADRUGA & ARAÚJO, 2001), além de variação de susceptibilidade à babesiose em diversas raças (FRANCIS, 1966).

O controle eficiente da infecção na fase aguda em animais que foram desafiados com cepas virulentas de *B. bovis* depende de uma resposta imunológica inata bastante eficiente capaz de induzir à ativação de macrófagos via IFN-gama e produtos derivados do parasito, que resulta na morte do organismo pela fagocitose e produção de metabólitos tóxicos incluindo óxido nítrico (NO). Segundo Brown et al. (2006) os animais com infecção persistente que normalmente controlam a parasitemia ou imunizados com sucesso, antígenos específicos para células T CD4+ são essenciais para a resposta imunológica adaptativa através da produção de IFN-gama. Estudos mostram que esta citocina além de ativar macrófagos para promoverem “clearance” aumenta a produção de anticorpos IgG 2 (ESTES & BROWN, 2002).

Em relação à produção de citocinas inflamatórias em resposta a *B. bovis* os macrófagos ativados secretam IL-12, TNF- $\alpha$  e IL18 que são importantes para as respostas imunológicas inata e adquirida, a IL-12 ativa as células natural killer (NK) a produzir altos níveis de IFN-gama (BROWN et al., 1996a). O TNF- $\alpha$  e concomitante com IFN-gama ativam a produção de NO pelos macrófagos (ADLER et al., 1994; GOFF

et al., 1998) e IL-18 também age sinergicamente com IL-12 para estimular a produção de IFN-gama (SHODA et al., 1999). A imunização de bovinos com a proteína associada à róprias-1 (RAP-1) de *B. bigemina* estimula a proliferação de células T CD4+ no sangue periférico e linfonodos, apesar da predominância da resposta Th1, os títulos de IgG1 e IgG2 específicos para RAP-1 não diferem significativamente (MADRUGA & ARAÚJO, 2001) tal fato, sugere que os níveis de IFN-gama (para estímulo à produção de IgG2) e IL4 (para estímulo à produção de IgG1) são suficientes para o processo de cooperação com os linfócitos B (BROWN et al., 1996).

Os animais puros e de uma mesma raça utilizados em testes vacinais não apresentam a mesma resposta antigênica, devido à grande variabilidade genética. Bittar et al. (2004) avaliando o perfil fenotípico de linfócitos (CD4, CD8 e CD21) de bovinos de três raças européias, sugeriram que o perfil fenotípico do sangue periférico dos linfócitos, pode influenciar o padrão de imunidade clínica. Assim, baixos níveis de linfócitos T (CD4 e CD8) e elevados níveis de linfócitos B em animais da raça holandesa podem estar associados à sua susceptibilidade para infecções por *Babesia*, enquanto elevados níveis de linfócitos T e baixos níveis de linfócitos B podem estar associados à maior resistência para infecções parasitárias como foi observado na resistência da raça Hereford à infecção por *Babesia*.

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) provavelmente é responsável por esta característica, pois os genes polimórficos que codificam as moléculas na comunicação bioquímica entre as células do sistema imunológico e no reconhecimento de antígenos próprios e não-próprios são de fundamental importância na apresentação de antígenos (KLEIN et al., 1993; HUGHES & YAGER, 1998; FREITAS, 2001). Com a evolução recente dos tetrâmeros de MHC para enumerar e monitorar células T durante a infecção, doença auto-imune ou após imunização contra agentes infecciosos ou tumores têm avançado no entendimento sobre a função das células T (KLENERMAN et al., 2002; MALLONE & NEPOM, 2004). Estudos realizados por Brown et al. (2006) mostraram que durante a infecção, não só a amplitude da resposta de células T, mas também a rapidez da resposta pode ser crítica, especialmente quando se trata de infecções por patógenos virulentos de *B. bovis* que

podem causar doença aguda por nove dias pós-desafio. Os tetrâmeros de MHC classe II podem ser utilizados para monitorar o desenvolvimento de antígeno-específicos de células T *in vivo* em animais imunizados antes e após o desafio. O controle da infecção dos parasitas do gênero *Babesia* ocorre por uma sintonia da imunidade inata, da resposta imune humoral e celular da imunidade adquirida (MADRUGA & ARAÚJO, 2001).

## 2.6 Epidemiologia

A prevalência da infecção e a ocorrência das doenças transmitidas pelos carrapatos são determinadas pela complexa interação entre hospedeiro, vetor e o parasita. A baixa probabilidade de soropositividade e a baixa incidência de doenças em *Bos indicus* podem resultar da resistência ao carrapato com maior capacidade de manter-se livre dos parasitas, levando a uma subsequente redução dos níveis de anticorpos através da diminuição da taxa de infecção (BOCK et al., 2004).

Na América Central e do Sul, a porcentagem de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* com *Babesia* spp. variaram de 0 - 5% para rebanhos *Bos indicus* e 18 – 40% em *Bos taurus* em pastagens (GUGLIELMONE, 1995) sendo observadas proporções similares no Brasil (MARTINS et al., 1994).

Vários estudos relatam a prevalência de *B. bovis* e *B. bigemina* em diferentes regiões do mundo, sendo que no Velho Mundo, Sahibi et al. (1998) encontraram em duas diferentes regiões da África soropositividade para *B. bovis* – 21,7 % e 42,2 % e *B. bigemina* – 10,8% e 40% respectivamente, neste mesmo continente, no Noroeste da Província de Tete-Moçambique, 39% das 478 amostras numa faixa etária de 4 a 15 meses de idade foram soropositivas ao Elisa para *B. bovis* (ALFREDO et al., 2005). Na região Sul da Itália nenhum animal foi positivo para *B. bovis*, enquanto que dos 506 soros testados, 117 (23,1%) foram positivos para *B. bigemina* (CRINGOLI et al., 2002).

Na América Latina observou-se a seguinte situação: no estado de Yucatan-México, a soroprevalência para *B. bigemina* com aproximadamente 942 amostras de soro bovino foi de 57,4% (RAMOS et al., 1992); na Guatemala de 95,8% para *B. bovis* e

89,6% para *B. bigemina* (TEGLAS et al., 2005); na região Centro-Occidental da Venezuela de 78,2% e 38,8% para *B. bigemina* e *B. bovis* respectivamente, independente da idade e da raça (JAMES et al., 1985). No Paraguai, as pesquisas sorológicas encontraram uma alta prevalência para *B. bovis* 71% e *B. bigemina* 79% (PAYNE & OSÓRIO, 1990); na Bolívia, os níveis de soroprevalência para *B. bovis* em regiões subtropicais úmidas, seca e vales foram de 74,8; 77,8% e 22,5%, respectivamente, enquanto que para *B. bigemina* foram de 23,5%, 56,5% e 12,8%, respectivamente (MAS et al., 2000).

No Brasil, as soroprevalências encontradas para a região Norte foram de 99,2% para *B. bigemina* e 98,8% para *B. bovis* no Nordeste do estado do Pará (JÚNIOR et al., 2008); na região Nordeste foi encontrado no estado da Bahia uma prevalência de 97,2% e 99,0% para *B. bovis* e *B. bigemina*, respectivamente pelo método de RIFI (ARAÚJO et al., 1997) e em Garanhuns-PE de 87,9% para *B. bigemina* (ALVES, 1987); na região Sudeste a mesorregião Norte Fluminense, 69,79% foram reagentes ao ELISA indireto, com anticorpos da classe IgG anti-*B. bigemina* (SOUSA et al., 2000), na Zona da Mata-MG, a prevalência para *B. bovis* foi de 82,53% e *B. bigemina* 79,04% (RIBEIRO et al., 1987) e no Vale do Paraíba em Pindamonhangaba-SP os percentuais foram de 94% para *B. bigemina* e 88% para *B. bovis* (BARCI et al., 1994); na região Centro-Oeste, microrregião da bacia leiteira do estado de Goiás foram encontrados valores de 94,4% e 93,3% para RIFI e ELISA, respectivamente para *B. bigemina* e para *B. bovis* 100% e 98,9% para RIFI e ELISA, respectivamente (SANTOS et al., 2001) e na região de cerrado, Mato Grosso do Sul, 80,96% e 87,11% para *B. bovis* e *B. bigemina*, respectivamente (MADRUGA et al., 1983). Na região Sul as prevalências encontradas em Bagé-RS foram de 74% e 87% para *B. bovis* e *B. bigemina*, respectivamente (ARTILIS et al., 1995) e 64,2% foram soropositivas para *B. bovis* em Umuarama-PR (OSAKI et al., 2002).

Desde 1994, Barci reconhece o Brasil como um país enzoótico, no entanto, existem algumas áreas que, em função das características edafoclimáticas, há interferência no desenvolvimento do *B. microplus* durante todo o ano com a transmissão de *Babesia* spp. se tornando irregular, dessa forma, de acordo com



conceitos de Mahoney & Ross (1972), podem ser consideradas regiões de instabilidade enzoótica.

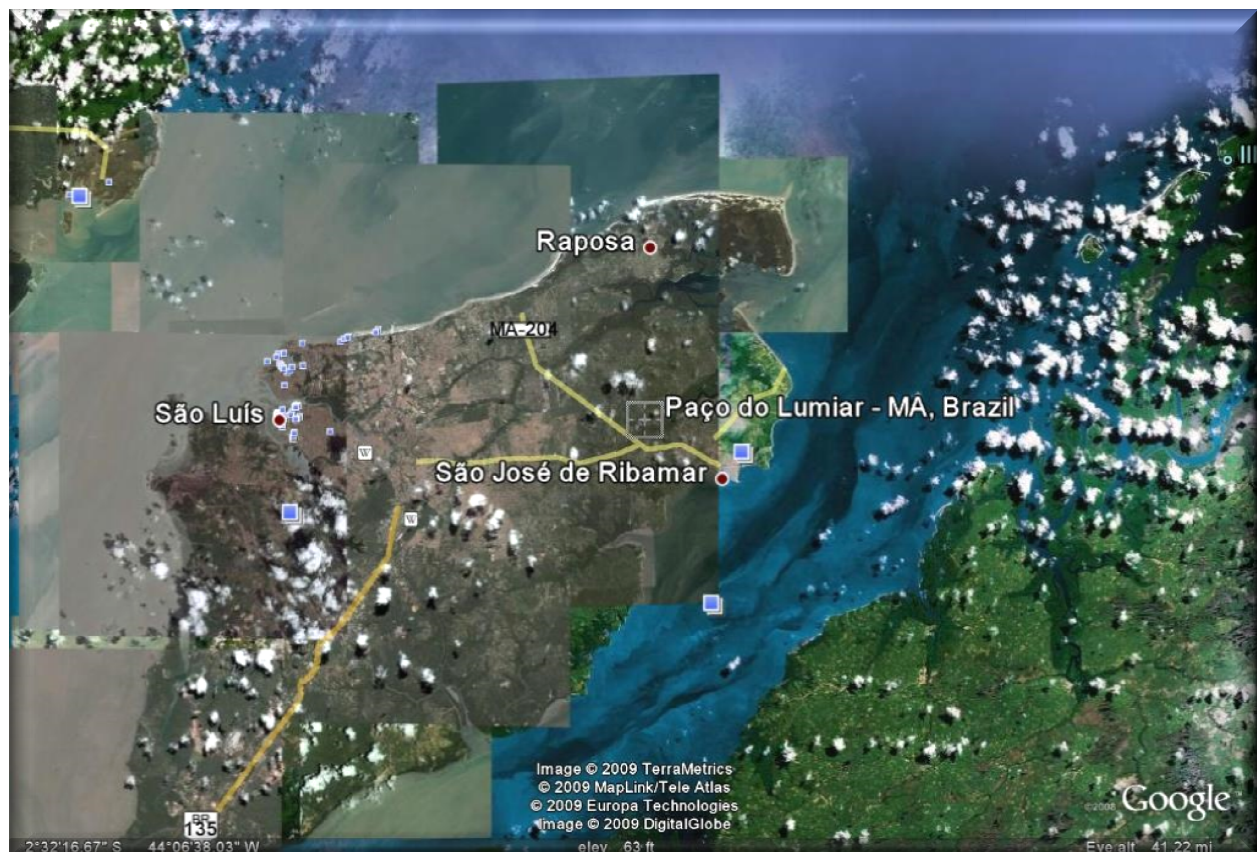
Uma região é caracterizada como estabilidade enzoótica quando a taxa de inoculação de *Babesia* spp. pelo carrapato permite a infecção de 75% ou mais dos bezerros, quando estes ainda estão protegidos pela imunidade inata e/ou colostrar, havendo nestes locais poucos casos de babesiose clínica. Em áreas de instabilidade enzoótica a taxa de inoculação de *Babesia* spp. pelos carrapatos nos animais jovens é baixa ou irregular, permitindo que alguns animais atinjam à idade adulta sem o desenvolvimento de imunidade, podendo assim ocorrer surtos de babesiose (McCOSKER, 1981).

O controle para o carrapato *B. microplus* pode causar uma sensível diminuição na população de carrapatos por um longo período de tempo, acarretando uma situação de instabilidade à babesiose, o que não acontece com o uso do controle estratégico (SMITH et al., 2000). Alguns pesquisadores concluíram que qualquer estratégia de controle usada para esse carrapato, deve preservar ou manter a estabilidade enzoótica para a babesiose através de exposição natural ao vetor ou, se necessário, através da implantação de programas de imunização.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de Estudo

O estudo foi desenvolvido na ilha de São Luís - MA (figura 1), que compreende os municípios de São Luís – MA ( $2^{\circ}31'50.63''$  Lat. S;  $44^{\circ}18'24.57''$  Long. O), Raposa – MA ( $2^{\circ}26'08.72''$  Lat. S;  $44^{\circ}06'08.11''$  Long. O), Paço do Lumiar – MA ( $2^{\circ}31'49.95''$  Lat. S;  $44^{\circ}06'18.79''$  Long. O) e São José de Ribamar – MA ( $2^{\circ}33'47.45''$  Lat. S;  $44^{\circ}03'45.23''$  Long. O). A ilha tem uma altitude de 4m e uma classificação climática B'WA'a' (ATALS DO MARANHÃO/GEPLAN, 2002). Durante os meses das coletas registraram-se a média da temperatura ( $28^{\circ}\text{C}$ ), média da umidade relativa do ar (78%) e precipitação pluviométrica acumulativa diária (152mm) de acordo como os dados do Laboratório de Geoprocessamento – UEMA (figura 2).



**Figura 1.** Vista espacial da ilha de São Luís – MA, em detalhes os municípios de São Luís, Raposa, Paço do Lumiar e São José de Ribamar.

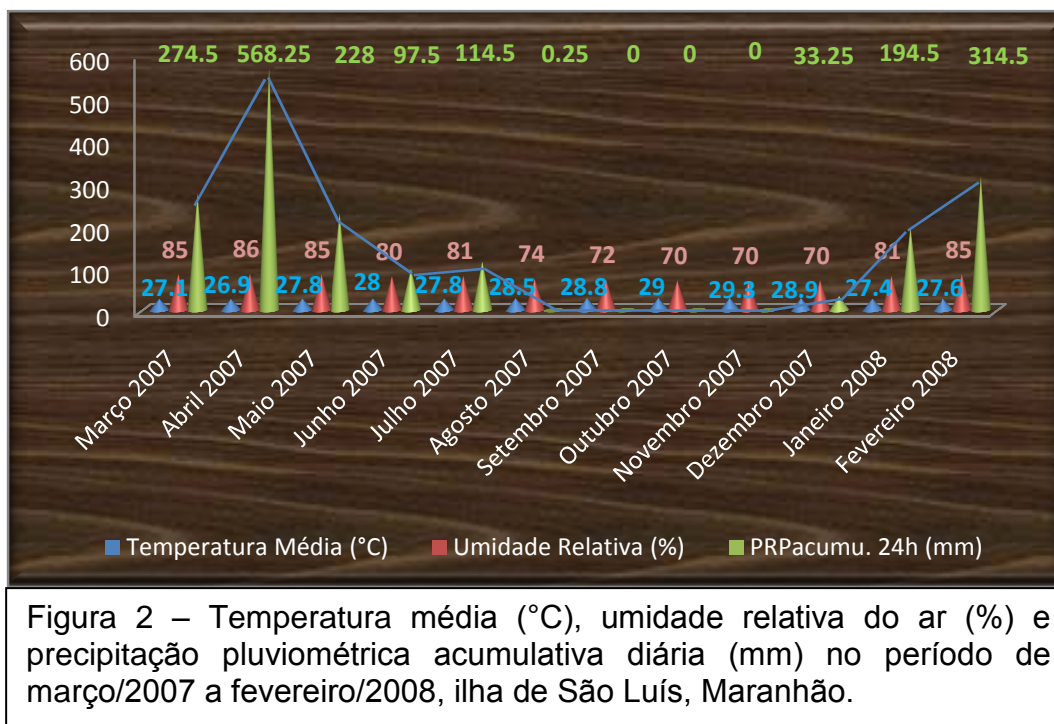


Figura 2 – Temperatura média (°C), umidade relativa do ar (%) e precipitação pluviométrica acumulativa diária (mm) no período de março/2007 a fevereiro/2008, ilha de São Luís, Maranhão.

### 3.2 Amostragem

O rebanho leiteiro da ilha de São Luís é composto de animais mestiços com predominância de sangue holandês com um efetivo de aproximadamente 1.443 cabeças (AGED-MA, 2007). A quantidade de animais amostrados foi obtida por conveniência em um número máximo de propriedades cadastradas pela Agência de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED). O tamanho da amostra (281) foi calculado através da fórmula do Centro Pan Americano de Zoonoses, para o estudo de enfermidades infecciosas crônicas, utilizou-se uma prevalência esperada de 92.5%, margem de erro 3% e grau de confiança 95% para *B. bovis* e *B. bigemina*, sendo amostrados animais de todas as faixas etárias presentes nas propriedades visitadas.

### 3.3 Aplicação do questionário

Antes da coleta de sangue fez-se o preenchimento de um questionário (anexo 1), visando obter informações sobre os animais e as propriedades.

### **3.4 Coleta de sangue**

Para realização dos testes diagnósticos parasitológico e sorológicos, amostras de sangue foram coletadas em tubos de vidro “vacum II” com anticoagulante (EDTA), através da punção das veias jugular ou coccígea e conservada à temperatura de -4°C. Após a centrifugação, as amostras de plasma foram colhidas e armazenadas em microtubos de 1,5 mL.

### **3.5 Avaliação sorológica dos animais**

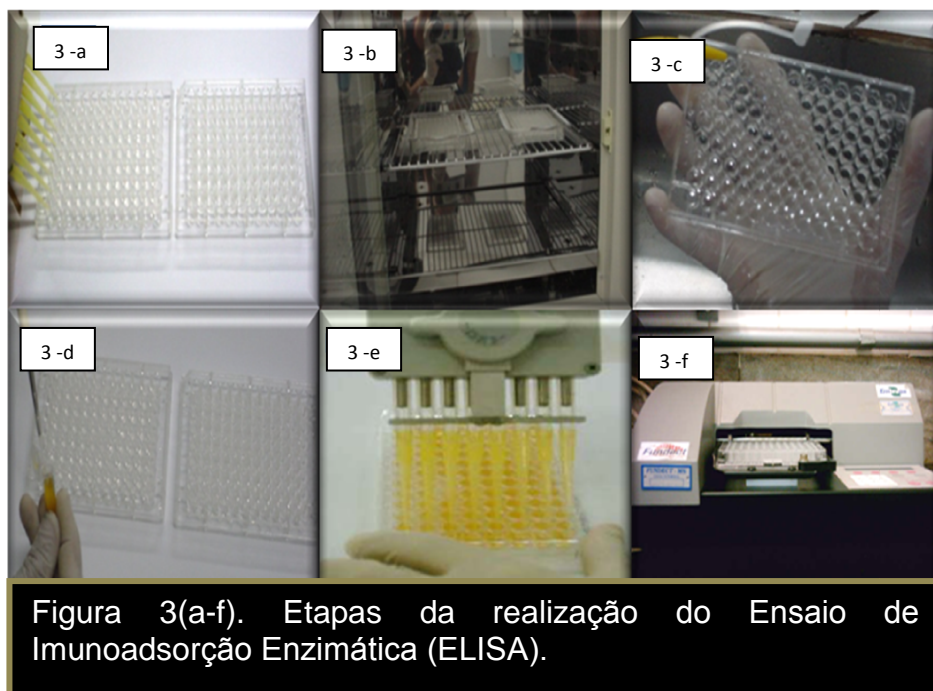
#### **3.5.1 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para *Babesia bigemina* e *Babesia bovis***

Para a realização da RIFI foram utilizados antígenos de *B. bovis* e *B. bigemina* preparados na Escola de Veterinária da Universidade Estadual de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP e a reação foi procedida conforme descrito pelo Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura - IICA (1987), sendo considerada positivo as amostras soro reagentes a titulação 1:40.

#### **3.5.2 Ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) para *Babesia bigemina* e *Babesia bovis***

O ELISA foi realizado no Laboratório de Sanidade Animal da EMBRAPA GADO DE CORTE (CNPGC) segundo metodologia proposta por Madruga et al. (2000) e Madruga et al. (2001) para *B. bigemina* e *B. bovis*, respectivamente (figura 3 a-f).

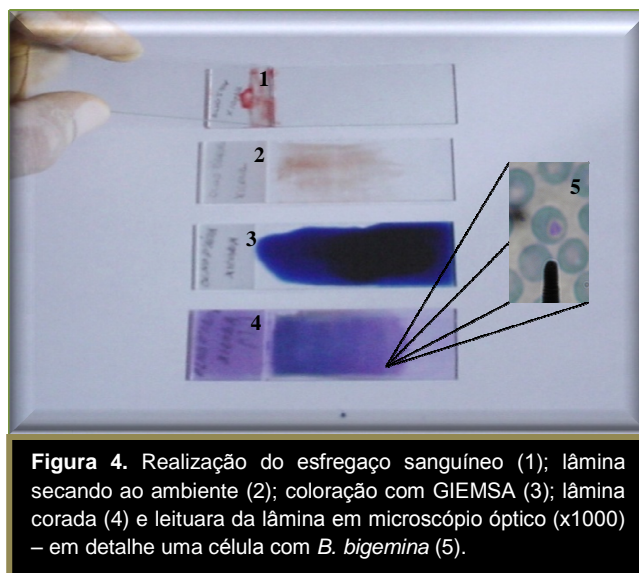
O *cut-off* da prova foi determinado usando a média das DOs (Densidades Óptica) de 10 soros negativos e dois soros positivos em duplicatas de animais livres de infecção e infectados por *B. bigemina* e *B. bovis*, respectivamente (MADRUGA et al., 2000 e MADRUGA et al., 2001).



### 3.6 Avaliação Parasitológica dos animais

#### 3.6.1 Esfregaço sanguíneo

Esfregaços sanguíneos foram preparados com sangue capilar, obtido por punção da ponta da orelha ou ponta da cauda, e posteriormente corado pelo método de GIEMSA (KESSER et al., 1998). A parasitemia de *Babesia* spp. foi determinada, sob microscopia óptica de imersão, aumento de 1000 X, pela percentagem de eritrócitos parasitados observados em 50 campos microscópicos. (figura 4).



### **3.7 Análise Estatística**

Os resultados dos testes diagnósticos (Esfregaço sanguíneo e Testes Sorológicos) foram colocados em tabelas de contingências com os dados de sexo, idade, raça, hematócrito e informações sobre o manejo dos animais. Estes dados foram comparados utilizando o teste Qui-quadrado. Os testes estatísticos foram realizados utilizando o programa Epi Info versão 6 de 1993 e versão 3.4.3 de 2007.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Prevalência de amostras soro reagentes a reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

Do total de 281 animais amostrados detectou-se a presença de anticorpos anti-*B. bovis* e anti-*B. bigemina* em ambos os sexos, diferentes faixas etárias e raças. Para *B. bovis* foram reagentes 262 (93,2%) e *B. bigemina* 264 (94%).

Estes dados se assemelham aos obtidos em microrregiões do estado da Bahia (ARAÚJO et al., 1997); em Pindamonhangaba, Vale do Paraíba-SP (BARCI, 1994); em rebanho leiteiro da microbacia de Goiânia (SANTOS et al., 2001); na Zona da Mata-MG (RIBEIRO et al., 1987) e em Garanhuns-PE (ALVES, 1987). Contudo divergem dos resultados de Madruga et al. (1983) no cerrado do Mato Grosso do Sul.

Em outros países da América Latina, percentuais inferiores foram detectados, a exemplo do estado de Yucatan-México (RAMOS et al., 1992), da região Centro-Ocidental da Venezuela (JAMES et al., 1985), Paraguai (PAYNE & OSÓRIO, 1990), e Bolívia (MAS et al., 2000), nos quais a soroprevalência variou de 12,8% a 79%. A diversidade no número de soropositivos para cada região ocorre como consequência de variações climáticas, topográficas e no manejo dos animais (OSAKI et al., 2002).

De acordo com os resultados obtidos pode-se afirmar que a ilha de São Luís-MA é uma área de estabilidade enzoótica, permitindo-se inferir que os animais se infectam quando estão protegidos pela imunidade inata (anticorpos adquiridos pelo colostro). Analisando os dados meteorológicos da região pode-se constatar que as condições climáticas são favoráveis ao ciclo do *B. microplus*, ressaltando que o ciclo biológico das *Babesia* spp. deve ocorrer em sintonia com a reprodução do vetor, portanto sendo indispensável para a sobrevivência dos agentes. A temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica acumulativa diária na ilha de São Luís-MA são favoráveis para o ciclo de vida do vetor.

Diferente do que ocorre na ilha de São Luís, em áreas de instabilidade enzoótica, como no Rio Grande do Sul, os dados de letalidade para *B. bigemina* e *B.*

*bovis* são da ordem de 68,03% e 74,06%, respectivamente, como assinalado por Almeida et al. (2006) em estudo retrospectivo de Tristeza Parasitária Bovina.

Juliano et al. (2007) observaram em relação a faixa etária que houve diminuição do número de animais positivos para ambas as espécies de *Babesia* com o avanço da idade, possivelmente relacionada a queda dos títulos de anticorpos. Galeta (2001) considerou a diminuição dos títulos de anticorpos anti-*B. bovis* e anti-*B. bigemina* em animais mais velhos como consequência da queda nas taxas de reinfecção dos animais, devido a flutuações no tamanho da população de carrapato e à menor parasitemia causada por aumento da resistência do hospedeiro. Esta hipótese não pode ser verificada neste trabalho, pois não há estudos sobre a sazonalidade do carrapato vetor na ilha de São Luís ou nestes hospedeiros.

Segundo Juliano et al. (2007) a investigação da dinâmica sazonal de *B. microplus* e dos mecanismos de resistência são importantes para elucidar as variáveis que interferem na epidemiologia da babesiose, visto que a relação entre infectividade, carga de carrapatos e soroprevalência é complexa, sendo que na avaliação do grau de estabilidade da população, ocorre a interferência de variáveis relacionadas aos animais e/ou às características da propriedade.

Em relação à idade dos animais, considera-se que os animais jovens sejam naturalmente mais resistentes, apresentando uma maior abundância de células T, correspondendo a 70% dos linfócitos T circulantes (BROWN, et al., 2006), segundo Gonçalves (2000) os bovinos jovens são mais resistentes do que os adultos devido a presença de anticorpos colostrais, rápida resposta imune celular, maior eritropoese da medula óssea e da presença de hemoglobina fetal nos eritrócitos. Em relação aos títulos de anticorpos, Madruga et al. (1984) verificaram que são baixos, aumentando a probabilidade dos animais desenvolverem a babesiose de forma aguda, sendo que período entre 28 a 56 dias após o nascimento para *B. bigemina* e 84 a 112 dias para *B. bovis*.

Os grupos mestiços com maior grau de sangue europeu (E/Z) e maior grau de sangue zebu (Z/E) ambos com aptidão leiteira foram observados uma significância para



*B. bigemina* ( $P < 0,05$ ), sendo que o grupo com (Z/E) apresentou uma maior prevalência de 97,8% (tabela 1). Estes dados não corroboram com os encontrados por Norval, 1992; Mattioli & Cassma, 1995; Meltzer, 1996; Mattioli, 1998; Wambura et al. 1998 & Mattioli et al. 2000 que relataram as raças taurinas têm menor resistência aos ectoparasitos, embora desenvolvam imunidade, não controlam as infestações com a mesma eficiência das raças zebuínas, desta forma os zebuínos seriam menos sensíveis aos agentes da *Babesia* spp. devido a sua resistência ao *B. microplus*.

Tabela 1 – Prevalências de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através da Reação de Imunofluorescência Indireta, segundo sexo, raça e idade

		<i>Babesia bovis</i>		<i>Babesia bigemina</i>		Valor de P
		SR (NT)	%	SR (NT)	%	
<b>SEXO</b>	M	43(45)	95,6	45(45)	100	
	F	219(236)	92,8	219(236)	92,8	
<b>IDADE</b>	Id < 12	68(75)	90,7	70(75)	93,3	
	12 ≤ Id ≤ 24	80(87)	92,0	82(87)	94,3	
	Id > 24	114(119)	95,8	112(119)	94,1	
<b>RAÇA</b>	Mest. E/Z	137(144)	95,1	130(144)	90,3 <sup>a</sup>	0,016
	Mest. Z/E	125(137)	91,2	134(137)	97,8 <sup>b</sup>	
<b>MÉDIA</b>		<b>262(281)</b>	<b>93,2</b>	<b>264(281)</b>	<b>94</b>	

\* *B. bigemina*; SR (Soros reagentes); NT (Número total de amostras); % (Porcentagem das amostras positivas); Id (Idade) e raça E/Z - Mestiço com maior grau de sangue europeu e Z/E – Mestiço com maior grau de sangue zebu. Letras iguais não diferem entre si na mesma coluna.

Os fatores relativos as propriedades, como origem dos animais, objetivos da produção, sistema de produção, controle dos ectoparasitos e época do ano que mais aparecem carrapatos nos animais são ferramentas indispensáveis para a compreensão da ecoepidemiologia destes agentes quando estudamos métodos de diagnósticos sorológicos. Observou-se que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os municípios de São Luís-MA, Raposa-MA e São José de Ribamar-MA quando se comparou os soros reagentes a *B. bovis*. Essas diferenças ocorreram devido a grande porcentagem de animais reagentes a RIFI (100%) para os municípios de Raposa – MA e São José de Ribamar – MA (Tabela 2).

Quando se comparou os resultados obtidos dos animais oriundos de outros municípios com aqueles provenientes da ilha de São Luís houve diferença significativa

( $P < 0,05$ ) para *B. bovis* e *B. bigemina*. sugerindo que o manejo dos animais quanto ao controle dos ectoparasitos é diferente, influenciando na epidemiologia da infecção.

Os sistemas de produção extensivo e semi-intensivo não influenciaram nos resultados quanto à soroprevalência para *B. bovis* e *B. bigemina*. O mesmo não foi observado quando se comparou os objetivos de produção (leite e carne/leite) que foi significativo ( $P < 0,05$ ), prevalecendo uma porcentagem alta para carne/leite (100%) em relação aos animais com aptidão leiteira (92,2%). Tabela 2.

O uso de produtos para controle de carrapatos foi estatisticamente significativo para animais soro reagentes a *B. bovis* ( $P < 0,05$ ) o mesmo não foi observado para *B. bigemina*. Observou-se em todas as propriedades visitadas infestação por *B. microplus*. Quando se comparou as médias de animais soro reagentes com a época do ano que animais estão mais infestados observou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para *B. bovis*, assim como o período seco em relação ao período chuvoso para *B. bigemina* ( $P < 0,05$ ). Tabela 2.

Em relação ao intervalo de controle (3/3 meses e de 6/6 meses) do vetor foi observado que para *B. bovis* não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ). Contudo foi altamente significativo para *B. bigemina*, sendo o intervalo de controle de 6/6 meses apresentou maior prevalência em relação a 3/3 meses. Isto demonstra que o longo tempo de controle aos carrapatos, os animais ficam mais susceptível aos agentes, além de diminuir os títulos de anticorpos para *B. bovis* e *B. bigemina*. Tabela 2.

Vieira et al. (2003) relataram que o uso de uma única aplicação de ivermectina (3,15%) no mês de novembro, determinou uma baixa de infestação de carrapatos nos meses seguintes e diminuiu a taxa de infecção por *B. bovis* e *B. bigemina* provocando condição de instabilidade enzoótica.

Tabela 2 – Prevalências de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através da Reação de Imunofluorescência Indireta, segundo fatores inerentes as propriedades

		<i>Babesia bovis</i>		<i>Babesia bigemina</i>		Valor de "p"
		SR (NT)	%	SR (NT)	%	
<b>Municípios</b>	São Luís – MA	112(131)	85,5 <sup>a</sup>	122(131)	93,1	*0,0002
	Raposa – MA	95(95)	100 <sup>b</sup>	87(95)	87	*0,0471
	Paço do Lumiar – MA	23(23)	100 <sup>ab</sup>	23(23)	100	
	S. J. de Ribamar – MA	32(32)	100 <sup>bc</sup>	32(32)	100	
<b>Origem dos Animais</b>	Cidades	170(189)	89,9 <sup>a</sup>	172(189)	91 <sup>a</sup>	*0,0037
	Vizinhos	92(92)	100 <sup>b</sup>	92(92)	100 <sup>b</sup>	**0,0069
<b>Objetivos da Produção</b>	Leite	200(217)	92,2	200(217)	92,2 <sup>a</sup>	
	Carne/Leite	62(64)	96,9	64(64)	100 <sup>b</sup>	**0,0442
<b>Sistema de Produção</b>	Extensivo	37(37)	100	37(37)	100	
	Semi-intensivo	225(244)	92,2	227(244)	93	
<b>Produtos</b>	Cipermetrina	35(44)	79,5 <sup>a</sup>	42(44)	95,5	*0,0003
	Outros	227(237)	95,8 <sup>b</sup>	222(237)	93,7	
<b>Infestação por Carrapato</b>	Ano Inteiro	93(93)	100 <sup>a</sup>	85(93)	91,4 <sup>a</sup>	*0,0000
	Período seco	34(44)	13,6 <sup>b</sup>	38(44)	86,4 <sup>a</sup>	*0,0304
	Período Chuvoso	131(144)	90,9 <sup>c</sup>	141(144)	97,9 <sup>b</sup>	*0,0071
<b>Época de Controle</b>	3/3 meses	173(190)	91,1	173(190)	91,1 <sup>a</sup>	**0,0061
	6/6 meses	89(91)	97,8	91(91)	100 <sup>b</sup>	**0,0074

\* *B. bovis*; \*\* *B. bigemina*; SR (Soros reagentes); NT (Número total de amostras) e % (Porcentagem das amostras positivas). Letras iguais não diferem entre si na mesma coluna.

#### 4.2 Prevalências de amostras soro reagentes ao Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)

Os resultados mostraram que do total de 281 amostras analisadas, 275 (97,9%) apresentaram anticorpos para *B. bovis* e *B. bigemina*. Nenhuma das variáveis estudadas como sexo, faixa etária e raças foram significativo ( $P > 0,05$ ). Tabela 3.

Os estudos realizados com antígenos brutos desenvolvidos para o ELISA na Embrapa Gado de Corte, Mato Grosso do Sul comprovaram sua sensibilidade (98%) e especificidade (98,1%) para a detecção de anticorpos contra *B. bovis* e *B. bigemina*, sendo, portanto uma ferramenta importante para pesquisas epidemiológicas (MADRUGA et al., 2000; MADRUGA et al., 2001). Com esta técnica e a alta frequência

de animais soro reagentes para *B. bovis* e *B. bigemina* na ilha de São Luís pode-se afirmar que é uma área de estabilidade enzoótica para ambos agentes.

Estes dados se assemelham com os encontrados por JUNIOR et al. (2008) ao pesquisarem a soroprevalência pelo método de ELISA para *B. bovis* (98,8%) e *B. bigemina* (99,2%) na região Nordeste do Pará, sendo que as condições climáticas são parecidas com as da ilha de São Luís, visto que esta fica próxima a Amazônia Legal. Situação de estabilidade enzoótica também foi observada no bioma de cerrado nas divisas dos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás para *B. bovis* (JULIANO et al., 2007); rebanho leiteiro da microrregião de Goiânia (SANTOS et al., 2001). Os resultados aqui apresentados diferem dos obtidos na divisa dos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás (JULIANO et al., 2007) e da mesorregião Norte Fluminense – Rio de Janeiro para *B. bigemina* (SOUSA et al., 2000) e em Umuarama - Paraná para *B. bovis* (OSAKI et al., 2002) na medida em que nestas regiões, situação de instabilidade enzoótica foi comprovada.

Tabela 3 – Prevalências de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através do Ensaio de Imunoadsorção Enzimática, segundo sexo, raça e idade

		<i>Babesia bovis</i>		<i>Babesia bigemina</i>	
		SR (NT)	%	SR (NT)	%
<b>SEXO</b>	M	45(45)	100	45(45)	100
	F	230(236)	97,9	230(236)	97,9
<b>IDADE</b>	Id < 12	74(75)	98,7	74(75)	98,7
	12 ≤ Id ≤ 24	84(87)	96,6	84(87)	96,6
	Id > 24	117(119)	98,3	117(119)	98,3
<b>RAÇA</b>	Mest. E/Z	139(144)	96,5	139(144)	96,5
	Mest. Z/E	136(137)	99,3	136(137)	99,3
<b>MÉDIA</b>		<b>275(281)</b>	<b>97,9</b>	<b>275(281)</b>	<b>97,9</b>

SR (Soros reagentes); NT (Número total de amostras); % (Porcentagem das amostras positivas); Id (Idade) e E/Z - Mestiço com maior grau de sangue europeu; Z/E – Mestiço com maior grau de sangue zebu.

Quando analisamos os fatores das propriedades em relação aos resultados do ELISA, verificou-se que não foi significativo ( $P > 0,05$ ) entre os municípios (São Luís, Raposa, Paço do Lumiar e São Jose de Ribamar), origem dos animais (de outras cidades e dentro da ilha – vizinhos), objetivos da produção (leite e carne/leite), sistema

de produção (extensivo e semi-intensivo), tipo de acaricidas utilizados (cipermetrina e outros) e época de controle do vetor (3/3 meses e 6/6 meses). Tabela 4.

Quanto à época que o vetor *B. microplus* é visto na propriedade (ano inteiro, período seco e período chuvoso) pode-se observar que foi estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ) para o ano todo em relação ao período seco para *B. bovis* e *B. bigemina*. O mesmo nível de significância ( $P < 0,05$ ) foi observado para o período seco em relação ao período chuvoso para *B. bovis* e *B. bigemina*.

Neste estudo os proprietários observaram maior infestação do *B. microplus* no animal no período chuvoso com 51,2%, ano todo 33,1% e período seco com 15,7%. Mendes et al. (2008) relataram que de acordo com a percepção da maioria dos produtores, o período de maior infestação ocorre nos meses de maio a agosto (42,1%) e setembro a dezembro (23,6%), enquanto que outros proprietários verificaram maior infestação nos meses de janeiro a março (16%), setembro a março (10,5%) e alguns (7,8%) o ano todo para a região de Pindamonhangaba, Vale do Paraíba - SP, além de relatar que esses resultados e os obtidos por Rocha et al. (2006) diferem dos dados encontrados em Divinópolis, Minas Gerais por Rocha (1995) e para toda a região Sudeste (FURLONG, 1993). Ressaltamos que a ilha de São Luís possui característica edafoclimática bem diferente da região Sudeste, sugerindo mais estudos a respeito do ciclo biológico deste vetor sobre a sazonalidade, que possa permitir o desenvolvimento de programas que visam prevenir o aparecimento da resistência, tendo como base o uso racional dos carrapaticidas, assim como o emprego de estratégias para cada propriedade.

Tabela 4 – Prevalência de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através do Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, segundo fatores inerentes às propriedades

		<i>Babesia bovis</i>		<i>Babesia bigemina</i>		Valor de "P"
		SR (NT)	%	SR (NT)	%	
<b>Municípios</b>	São Luís – MA	125(131)	95,4	125(131)	95,4	
	Raposa – MA	95(95)	100	95(95)	100	
	Paço do Lumiar – MA	23(23)	100	23(23)	100	
	S. J. de Ribamar – MA	32(32)	100	32(32)	100	
<b>Origem dos Animais</b>	Cidades	183(189)	96,8	183(189)	96,8	
	Vizinhos	92(92)	100	92(92)	100	
<b>Objetivos da Produção</b>	Leite	211(217)	97,2	211(217)	97,2	
	Carne/Leite	64(64)	100	64(64)	100	
<b>Sistema de Produção</b>	Extensivo	37(37)	100	37(37)	100	
	Semi-intensivo	238(244)	97,5	238(244)	97,5	
<b>Produtos</b>	Cipermetrina	44(44)	100	44(44)	100	
	Outros	231(236)	97,5	231(236)	97,5	
<b>Infestação por Carrapato</b>	Ano Inteiro	93(93)	100 <sup>a</sup>	93(93)	100 <sup>a</sup>	0,008
	Período seco	34(38)	86,4 <sup>b</sup>	34(38)	86,4 <sup>b</sup>	0,0009
	Período Chuvoso	144(144)	100 <sup>ac</sup>	144(144)	100 <sup>ac</sup>	
<b>Época de Controle</b>	3/3 meses	184(190)	96,8	184(190)	96,8	
	6/6 meses	91(91)	100	91(91)	100	

SR (Soros reagentes); NT (Número total de amostras) e % (Porcentagem das amostras positivas).  
Letras iguais não diferem entre si na mesma coluna.

A concordância entre os métodos de RIFI e o ELISA observada neste trabalho, sustenta os resultados reportados por outros autores (MARTINS et al., 1996, ARAÚJO et al., 1998, MADRUGA et al. 2000, SANTOS et al., 2001).

Diante destes resultados, considera-se baixo os riscos de surtos com perdas econômicas em rebanhos nativos ou adaptados, todavia a ilha de São Luís é uma área de risco para animais suscetíveis procedentes de regiões livres ou de instabilidade enzoótica para *B. bovis* e *B. bigemina*, sendo que estes animais devem ser previamente submetidos a um processo de imunização.

### 4.3 Amostras positivas nos esfregaços sanguíneos

No total de 281 amostras analisadas 22 (7,8%) foram positivas para *B. bovis* e para *B. bigemina*. Iça et al. (2007) analisaram 337 amostras obtendo 2 (0,6%) de positividade para *B. bigemina* concomitante a *Theileria* spp. e nenhum animal foi positivo para *B. bovis*. Animais que são imunocompetentes aos agentes da *Babesia* spp. tornam-se portadores e, têm um importante papel na transmissão da infecção pelos carrapatos segundo D'Oliveira (1995). Estes dados confirmam os resultados deste estudo, haja vista que os animais infectados não apresentavam nenhum sinal clínico característico para a babesiose, contudo permanecem como portadores.

Quando se comparou a média de positividade entre os sexos, verificou-se que foi significativo ( $P < 0,05$ ) para *B. bovis*, sendo (17,8%) para machos em relação as fêmeas (5,9%), nenhuma associação ocorreu para *B. bigemina* (tabela 5).

As faixas etárias menores que 12 meses, entre 12 e 24 meses e maiores que 24 meses em relação a positividade para o esfregaço sanguíneo não foram significativos ( $P > 0,05$ ) para ambos agentes.

Ressaltamos que a *B. bovis* apresentou uma associação significativa ( $P < 0,05$ ) entre as raças mestiça (E/Z) com positividade no esfregaço sanguíneo de 3,5% comparados aos animais (Z/E) com 12,4%, entretanto para *B. bigemina* essas diferenças estatísticas não foram observadas ( $P > 0,05$ ). Tabela 5.

Tabela 5 – Positividade de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através do Esfregaço Sanguíneo, segundo sexo, raça e idade

		<i>Babesia bovis</i>		<i>Babesia bigemina</i>		Valor de “P”
		P (NT)	%	P (NT)	%	
<b>SEXO</b>	M	8(45)	17.8 <sup>a</sup>	5(45)	11.1	0.016
	F	14(236)	5.9 <sup>b</sup>	17(236)	7.2	
<b>IDADE</b>	Id<12	6(75)	8.0	4(75)	5.3	
	12≤Id≤24	7(87)	8.0	5(87)	5.7	
	Id>24	9(119)	7.6	13(119)	10.9	
<b>RAÇA</b>	Mest. E/Z	5(144)	3.5 <sup>a</sup>	7(144)	4.9	0.010
	Mest. Z/E	17(137)	12.4 <sup>b</sup>	15(137)	10.9	
<b>MÉDIA</b>		<b>22(281)</b>	<b>7.8</b>	<b>22(281)</b>	<b>7.8</b>	

P (Amostras positivas); NT (Número total de amostras); % (Porcentagem das amostras positivas); Id (Idade) e E/Z - Mestiço com maior grau de sangue europeu; Z/E – Mestiço com maior grau de sangue zebu. Letras iguais não diferem entre si na mesma coluna.

Quando se analisaram os fatores inerentes as propriedades estudadas, verificou-se que não houve uma associação significativa ( $P>0,05$ ) para *B. bovis* e *B. bigemina* em relação aos municípios estudados. Para a origem dos animais, sistema de produção, produtos utilizados no controle de carrapatos e época de maior infestação por carrapato nos animais não foram significativos ( $P>0,05$ ) quando comparados a infecção para *B. bovis* e *B. bigemina* (tabela 6). Os fatores relacionados aos objetivos da produção (leite e carne/leite) e época de controle (3/3 meses e 6/6 meses) foram significativos ( $P<0,05$ ) para *B. bigemina*. Isto revela que a forma de controle dos carrapatos influencia na frequência de animais positivos ao esfregaço sanguíneo.



Tabela 6 – Positividade de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, através do Esfregaço Sanguíneo, segundo fatores inerentes as propriedades

		Esfregaço Sanguíneo				Valor de "P"
		<i>Babesia bovis</i>		<i>Babesia bigemina</i>		
		POS (NT)	%	POS (NT)	%	
<b>Municípios</b>	São Luís – MA	16(131)	12,2	13(131)	9,9	
	Raposa – MA	4(95)	4,2	7(95)	7,4	
	Paço do Lumiar – MA	0(23)	0,0	1(23)	4,3	
	S. J. de Ribamar – MA	2(32)	2,0	1(32)	3,1	
<b>Origem dos Animais</b>	Cidades	17(189)	9,0	15(189)	7,9	
	Vizinhos	5(92)	5,4	7(92)	7,6	
<b>Objetivos da Produção</b>	Leite	13(217)	6,0	10(217)	4,6 <sup>a</sup>	0,0005
	Carne/Leite	9(64)	14,1	12(64)	18,8 <sup>b</sup>	
<b>Sistema de Produção</b>	Extensivo	3(37)	8,1	5(37)	13,5	
	Semi-intensivo	19(244)	7,8	17(244)	7,0	
<b>Produtos</b>	Cipermetrina	7(44)	15,9	3(44)	6,8	
	Outros	15(237)	6,3	19 (237)	8,0	
<b>Infestação por Carrapato</b>	Ano Inteiro	4.0(93)	4,3	6.0(93)	6,5	
	Período seco	3.0(44)	6,8	3.0(44)	6,8	
	Período Chuvoso	15(144)	10,4	13(144)	9,0	
<b>Época de Controle</b>	3/3 meses	11(190)	5,8	9(190)	4,7 <sup>a</sup>	0,0107
	6/6 meses	11(91)	12,1	13(91)	14,3 <sup>b</sup>	

POS (Animais Positivos); NT (Número total de amostras) e % (Porcentagem das amostras positivas).  
Letras iguais não diferem entre si na mesma coluna.

#### 4.4 Índice de Parasitemia

No diagnóstico parasitológico detectou-se infecção por *B. bovis* e *B. bigemina*, sendo o município de São Luís - MA o que apresentou a maior média do índice de parasitemia com 0,11 e 0,10 para *B. bovis* e *B. bigemina*, respectivamente. A menor média do índice de parasitemia foi de 0,03 para *B. bovis* em São José de Ribamar - MA e 0,04 para *B. bigemina* em Paço do Lumiar - MA, sendo que neste município não foi detectada infecção por *B. bovis* nas amostras analisadas (tabela 7).

Tabela 7 - Índices de parasitemia de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* detectados em bovinos de leite na ilha de São Luís – MA, examinados em 50 campos microscópicos

Municípios	Índice de Parasitemia						Total Animais
	<i>Babesia bovis</i>			<i>Babesia bigemina</i>			
	Mim.	Média	Máx.	Mim.	Média	Máx.	
<b>São Luís – MA</b>	0,02	0,11	0,50	0,02	0,10	0,22	131
<b>Raposa - MA</b>	0,02	0,04	0,06	0,02	0,06	0,10	95
<b>Paço do Lumiar - MA</b>	0,00	0,00	0,00	0,04	0,04	0,04	23
<b>São José de Ribamar - MA</b>	0,02	0,03	0,04	0,08	0,08	0,08	32
							<b>281</b>

Mendonça et al. (2003) relataram os maiores percentuais de parasitemia de 0,05% (Sudeste) e 0,08% (Nordeste) observados no 4º e no 7º dia pós infecção experimental, relatando que todos os animais apresentaram baixa parasitemia, provavelmente relacionada a uma maior resistência dos bezerros nelore ao agente, levando-se em consideração a quantidade de inóculo empregada. Esses índices foram semelhantes aos encontrados para os municípios de Raposa, Paço do Lumiar e São José de Ribamar, embora os animais utilizados fossem mestiços de raças com aptidão leiteira. Uma maior taxa foi observada por Oliveira et al. (2008) para merozoítos de *B. bigemina* (menor do que 0,1% de eritrócitos parasitados). Esses dados se assemelham aos obtidos no município de São Luís-MA para *B. bigemina*, embora a constituição genética dos animais seja diferente. Estudos realizados por Cavalcante (2007) e Saleh et al. (2009) com bovinos naturalmente infectados com *B. bigemina* encontraram valores de parasitemia de 0,72% e 14% a 36% respectivamente, sendo estes valores altos quando comparado aos aqui apresentados.

O teste direto de esfregaço sanguíneo não revela com eficiência a realidade da situação epidemiológica na região, visto que a técnica depende do grau de parasitemia, grau de virulência e resposta imunológica do animal.

## 5. CONCLUSÃO

A ilha de São Luís, estado do Maranhão é considerada área de estabilidade enzoótica para a infecção por *B. bovis* e *B. bigemina*. Tal característica significa que houve inoculação gradativa dos parasitos resultando em imunidade ativa, o que explica a ausência de relatos clínicos de babesiose.

## REFERÊNCIAS

ADLER, H., PETERHANS, E., NICOLET, J., JUNGI, T.W. Inducible Larginine-dependent nitric oxide synthase activity in bovine bone marrow-derived macrophages. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**198. p.510–515.1994.

AGED-MA. Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão, 2007. Disponível em:<<http://www.aged.ma.gov.br>. Acesso em: Maio 2007.

[ALFREDO, A. A. N;](#) [JONSSON, N. N;](#) [FINCH, T. M;](#) [NEVES, L;](#) [MOLLOY, J. B,](#) [JORGENSEN, W. K.](#) *Serological survey of *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in cattle in Tete Province, Mozambique.* **Trop. Anim. Healt. And Product.** v. 33, n. 2, p. 121-131, 2005.

ALMEIDA, M. B.; TORTELLI, F. P.; RIET-CORREA, B.; FERREIRA, J. L. M.; SOARES, M. P.; FARIAS, N. A. R.; RIET-CRREEA, F.; SCHILD, A. L. Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-2005. **Pesq. Vet. Bras.** v. 26, n. 4, p. 237-242, 2006.

ALONSO, M.; ARELLANO-SOTA, C.; CERESER, V.H.; CORDOVÉS, C. O.; GUGLIELMONE, A. A.; KESSLER, R.; MANGOLD, A. J.; NARI, A.; PATARROYO, J. H.; SOLARI, M. A.; VEGA, C. A.; VIZCAINO, O.; CAMUS, E. Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in latin America and the Caribbean. **Rev. Scient. Techn. Off. Inte. Epiz.,** v. 11, n. 3, p. 713-733, 1992.

ALVES, L. C. **Prevalência da babesiose bovina em gado leiteiro do município de Garanhuns, estado de Pernambuco.** 1987. 125f. (Dissertação de Mestrado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia /Universidade de São Paulo.

ARAÚJO, F. R.; MADRUGA, C. R.; ALMEIDA, M. A. O. LEAL, C. R. B.; MIGUITA, M. Levantamento sorológico de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* no estado da Bahia pela imunofluorescência indireta e teste de conglutinação rápida. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 6, n. 2, p. 111-115. 1997.

ARAÚJO, F. R.; MADRUGA, C. R.; LEAL, C. R. B.; SCHENK, M. A. M.; KESSLER, R. H.; MARQUES, A. P. C.; LEMAIRE, D. C. Comparison between enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody and rapid agglutination tests in detecting antibodies against *Babesia bovis*. **Vet. Parasitol.** v. 74, n. 2-4, p. 101-108, 1998.

ARTILES, J.; ALVES BRANCO, F. P.; MARTINS, J. R.; CORREA, L. B.; SAPPER, M. F. M. Prevalência de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* no município de Bagé, RS. **Brazil. J. Vet. Parasitol.** v.4, n. 2, supl.1, p. 179, 1995.

ATLAS DO MARANHÃO / GERÊNCIA DE PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, LABORATÓRIO DE GEOPROCESSAMENTO – UEMA. São Luís: GEPLAN. 2002.

BARCI, L. A. G.; OLIVEIRA, M. R.; MACHADO, R. Z.; OLIVEIRA, D. A.; ARAÚJO FILHO, R. S. Epidemiologia da babesiose bovina no Estado de São Paulo: I. Estudo em rebanhos produtores de leite tipo B do município de Pindamonhangaba, Vale do Paraíba. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.3, n.2, p. 79-82, 1994.

BITTAR, J. F. F.; RIBEIRO, M. F. B.; MARCIANO, A. P. V.; SALCEDO, J. H. P.; MARTINS-FILHO, O. A. Perfil fenotípico de linfócitos periféricos de bovinos de raças européias. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** n. 56, p. 107-110, 2004.

BOCK, R. E., JACKSON, L., DE VOS, B., JORGENSEN, W. K., Babesia. In: Bowman, A.S., Nuttall, P.A. (Eds.), Ticks, disease & control. **Cambridge University Press. Parasit.** v.129 Suppl, 247–270. 2004.

BRACARENSE, A. P. F. L.; VIDOTTO, O.; CRUZ, G. D. Transmissão congênita de *Babesia bovis*, **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v.53, n. 4, p. 479-481, 2001.

BRITO, D. R. B.; GUERRA, R. M. S. N. C. Ixodofauna de mamíferos domésticos da ilha de São Luís, estado do Maranhão, Brasil. **Entomology Vectors**, v. 11, p. 435-444, 2004.

BROWN, W. C.; DAVIS, W. C.; TUO, W. Human IL-12 upregulates proliferation and IFN-g production by parasite antigenstimulated Th cell clones and g/d T cells of cattle. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** n. 795, p. 321–324, 1996a.

BROWN, W. C.; MCELWAIN, T. F.; RUEF, B. J.; SUAREZ, C. E.; SHKAP, V.; CHITKOMCKOWN, C. G.; TUO, W.; RICE-FICHT, A. C.; PALMER, G. H. *Babesia bovis* rhoptry-associated protein-1 is immunodominant for T helper cells of immune cattle and contains T cell epitopes conserved among geographically distant *B. bovis* strains. **Infect. Immun.** v. 64, p. 3341–3350, 1996.

BROWN, W. C.; NORIMINE, J.; KNOWLES, D. P.; GOFF, W. Immune control of *Babesia bovis* infection. **Vet. Parasitol.** v.138, p.75–87, 2006.

CASTRO, J. J.; NEWSON, R. M. Host resistance in cattletick control. **Parasit. Tod. Limer.** v.9, p.13-7, 1993.

CAVALCANTE, G. G. **Aspectos clínicos e epidemiológicos das infecções por *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale* em bezerros da raça Nelore no Estado de São Paulo.** Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2007.

CORDOVÉS, C. O. **Carrapato: controle ou erradicação.** 2.ed. Guaíba, RS: Agropecuária, 1997.

CRINGOLI, G.; OTRANTO, D.; TESTINI, G.; BUONO, V.; GIULIO, G. Di.; TRAVERSA, D.; LIA, R.; RINALDI, L.; VENEZIANO, V.; PUCCINI, V. Epidemiology of bovine tick-borne diseases in southern Italy. **Vet. Res.** v.33, p. 421-426, 2002.

DALGLIESH, R. J.; STEWART, N. P. The extraction of infective *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* from tick eggs and *B. bigemina* from unfed larval ticks. **Aust. Vet. J.**, v. 54, p. 453-454, 1978.

DAVEY, R. B.; OSBURN, R. L.; MILLER, J. A. Ovipositional and morphological comparisons of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) collected from different geographic areas. **Ann. Entomolog. Soc. Americ.** v.77, p.1-5, 1984.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.20, p.323–367, 2007.

D'OLIVEIRA, C., VAN DER WEIDE, M., HABELA, M.A., JACQUIET, P., JONGEJAN, F. Detection of *Theileria annulata* in blood samples of carrier cattle by PCR. **J. Clin. Microbiol.** v.33, p. 2665-2669, 1995.

ESTES, D. M.; BROWN, W. C.; The type 1/type 2 paradigm and regulation of humoral immune responses in cattle. **Vet. Immunol. Immunopathol.** v. 90, p. 1–10, 2002.

EVANS, D. E. Ecologia e controle de carrapatos de bovinos. Juiz de Fora: **EMBRAPA-CNPGL**, Circular Técnica. p. 32, 1992.

FRANCIS, J. Resistance of zebu and other cattle to tick infestation and babesiosis with special reference to Australia: an historical review. **Brit. Vet. J.** v. 122, n. 7, p. 301-307. 1966.

FREITAS, C. M. B. **Resposta imune induzida por Babesia bovis (Starcovicci, 1983): reconhecimento e ativação ex vivo de peptídeos sintéticos e eventos celulares em linfonodos de bovinos.** 2001. 91f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

FRIEDHOFF, K. T. Morphologic aspects of *Babesia* in the tick. In: *Babesiosis*. **Academic press**, USA, New York. p. 160-162, 1981.

FRIEDHOFF, K. T. Transmission of Babesia. In: RISTC, M. **Babesiosis of Domestic Animals and Man.** Boca Raton, Florida: CRC Press. Inc., Cap. 2, p. 23-52, 1988.

FURLONG, J. Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil. **Caderno Técnico da Esc. Veterinária UFMG**, n. 8, p. 49-61, 1993.

GALETA, A. R. Antibody response to *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* by vaccinated and invaccinated cattle in endemic area. 2001. 98f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Veterinárias da Universidade de Pretoria, África do Sul, 2001.

GOFF, W. L.; JOHNSON, C. C.; CLUFF, C. W. *Babesia bovis* immunity. *In vitro* and *in vivo* evidence for IL-10 regulation of IFN-g and iNOS. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** v. 849, 161–180, 1998.

GOMES, A. O *Boophilus microplus*. In: KESSLER, R. H.; SCHENK, M. A. M. Carrapato, Tristeza Parasitária e Tripanossomose dos Bovinos. EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa Gado de Corte**. p.10-46, 1998.

GONÇALVES, P. M. Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região Sudeste do Brasil. **Ciênc. Rural, Santa Maria**. v. 30, n.1, p.187-194, 2000.

GONZALES, J. C. **O carrapato do boi: vida, resistência e controle**. São Paulo: Mestre Jou, p. 101, 1974.

GONZALES, J. C. **O controle dos carrapatos dos bovinos**. Porto Alegre: Sulina, p. 104, 1975.

GUGLIELMONE, A. A. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America, **Vet. Parasitol.** v. 57, p. 109-19, 1995.

HOMER, M, J.; AGUILAR-DELFIN, I.; TELFORD III, S. R.; KRAUSE, P. J.; PERSING, D. H. BABESIOSIS. **Clin. Microbiol. Rev.** v. 13, n. 3, p. 451-469, 2000.

HUGHES, A. L.; YEAGER, M. Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates. **Annu. Rev. Genet.**, v. 32, p. 415-435, 1998.

IÇA, A.; INCI, A.; YILDIRIM, A. Parasitological and Molecular Prevalence of Bovine Theileria and Babesia Species in the Vicinity of Kayseri. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** v. 31, n. 1, p. 33-38, 2007.

IICA (Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura). **Técnicas para el diagnóstico de babesiosis y anaplasmosis bovinas**. San José, p. 79, 1987.

JAMES, M. A.; CORONADO, A.; LOPEZ, W.; MELENDEZ, R.; RISTIC, M. Seroepidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Venezuela. **Trop. Anim. Healt. Prod.**, v. 17, p. 9-18, 1985.



JONSSON, N. N; MATSCHOSS, A. L; PEPPER, P.; GREEN, P. E; ANSELL, J. Resistance of Holstein-Friesian cows to infestation by the cattle tick (*Boophilus microplus*). **Vet. Parasitol.**, v.17,n. 89, p. 297-305, 2000.

JULIANO, R. S.; MACHADO, R. Z.; FIORAVANTE, M. C. S.; ANDRADE, G. M.; JAYME, V. S. Soroepidemiologia da babesiose em rebanhos de bovinos da raça Curraleiro. **Ciênc. Rural.** v. 37, n. 5, p. 1387-1392, 2007.

JUNIOR, D. S. G.; ARAÚJO, F. R.; SILVA, F. J. M.; RANGEL, C. P.; NETO, J. D. B.; FONSECA, A. H. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* AND *Borrelia burgdorferi* in cattle from the Northeastern Region of the STATE of PARÁ, BRAZIL. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 17, n. 2, p. 105-109, 2008.

KESSER, R. H.; SCHENK, M. A. M. Ed. Carrapato, Tristeza Parasitária e Tripanossomose dos Bovinos. Campo Grande: EMBRAPA – CNPGC, p.157. 1998.

KLEIN, J.; TAKAHATA, N.; AYALA, F. J. MHC polymorphism and human origins. **Sci. Am.**, v.269, p.78-83, 1993.

KLENERMAN, P.; CERUNDOLO, V.; DUNBAR, P.R. Tracking T cells with tetramers: new tales from new tools. **Nat. Rev. Immunol.** v. 2, p. 263–272, 2002.

KOCAN, K. M., DE LA FUENTE, J., BLOUIN, E. F., GARCIA-GARCIA, J. C. *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host–pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. **Parasitology**, n.129, p.285–300. 2004.

LEVINE, N. D. Progress in Taxonomy of the Apicomplexan Protozoa. **J. Protozoology.** v. 35, n. 4, 1988.

MACKENSTEDT, U.; GAUER, M.; FUCHS, P.; ZAPF, F.; SCHEIN, E.; MEHLHORM, H. DNA measurements reveal differences in the cycles of *Babesia bigemina* and *B. canis*, two typical members of the genus *Babesia*. **Parasitol. Res.**, v. 81, p. 595-604, 1995.

MADRUGA, C. R.; AYCARDI, E.; PUTT, N. Epidemiologia da anaplasmosose e babesioses em bovinos da Região do Cerrado do Estado do Mato grosso do sul: I – Prevalência. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v.35, n. 5, p. 631-640, 1983.

MADRUGA, C. R.; AYCARDI, E.; KESSLER, R.H.; SCHENK, M. A. M.; FIGUEIREDO, G. R.; CURVO, J. B. E; Níveis de anticorpos anti-*Babesia bigemina* e *Babesia bovis* em bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos de Nelore. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 19, n.9, p.1163-8, 1984.

MADRUGA, C. R. & ARAÚJO, F. R. Imunidade Contra Hemoparasito, p.73-96. In: Madruga C. R., Araújo F. R., & Soares C. O. **Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária**. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. 2001.

MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; MARQUES, A. P. C.; CARVALHO, C. M. E.; CUSINATO, F. Q.; CROCCI, A. J.; KESSLER, R. H.; MIGUITA, M. Desenvolvimento de uma prova de imunoabsorção enzimática para detecção de anticorpos contra *Babesia bovis*. **Pesq. Vet. Brasil.** v. 20, n. 4, p. 167-170, 2000.

MADRUGA, C. R.; MARQUES, A. P. C.; ARAÚJO, F. R.; MIGUITA, M; CARVALHO, C. M. E.; ARAÚJO, F. S; UMAKI, A. C. S.; CROCCI, A. J.; QUEIROZ, R. A. Evaluation of na ELISA for detection of antibodies to *Babesia bigemina* in cattle and application in na epidemiological survey in Brazil. **Pesq. Vet. Brasil.** v. 21, n. 2, p. 72-76, 2001.

MAHONEY, D. F.; ROSS, D. R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. **Aust. Vet. J.** v. 48, p. 292-298, 1972.

MALLONE, R. & NEPOM, G.T. MHC class II tetramers and the pursuit of antigen-specific T cells: define, deviate, delete. **Clin. Immunol.** v.110, p. 232–242, 2004.

MARTINS, J. R.; CORREA, B. L.; CERESER, V. H.; ARTECHE, C. C. P.; GUGLIELMONE, A. A. Some aspects of the epidemiology of *Babesia bovis* in Santana do Livramento, southern Brazil. **Brazil. J. Vet. Parasitol.** v.3, n. 2, p. 75–78. 1994.

MARTINS, J. R.; CORREA, B. L.; CERESER, V. H. A comparative study between ELISA and indirect immunofluorescent tests to detect antibodies against *Babesia bovis*. **Ciênc. Rural**. v. 26, n. 1, p. 115-118, 1996.

MARTINS, J.R. Tristeza parasitária bovina. In: Carrapatos: problemas e soluções. **Embrapa Gado de Leite**, Juiz de Fora, p. 39-49, 2005.

MAS, J. J. C.; WIDDOWSON, M. A.; CUÉLLAR, A. M.; RIBERA, H.; WALKER, A. R. Risk of babesiosis and anaplasmosis in different ecological zones of Santa Cruz Department, Bolivia. **Vet. Parasitol.** v. 93. p. 29–38, 2000.

MASSARD, C. L.; FREIRE, R. B. Etiologia, manifestações e diagnósticos das babesioses no Brasil. **A Hora Vet.** ano 4, n. 23, 1985.

MATTIOLI, R. C. Comment on “A possible explanation of the apparent breed-related resistance in cattle to bont tick (*Amblyomma hebraeum*) infestations. *Vet. Parasit.* 1996, 67, 275–279.” **Vet. Parasitol.** v. 79, p. 263–264, 1998.

MATTIOLI, R. C., CASSMA, M. Comparison of characteristics of life cycle in female ticks collected on N'Dama and Zebu cattle. **Trop. Anim. Health and Product.** v. 27, p. 150–154, 1995.

MATTIOLI, R. C., PANDEY, V. S., MURRAY, M., FITZPATRICK, J. L., Immunogenetic in Xuences on tick resistance in African cattle with particular reference to trypanotolerant N'Dama (*Bos taurus*) and trypanosusceptible Gobra zebu (*Bos indicus*) cattle. **Act. Trop.** v.75, p. 263–277, 2000.

McCOSKER, P.J. The global importance of babesiosis. In: Ristic M. & Krier J.P. (ed.) **Babesiosis**. Academic Press, New York. p. 1-24, 1981.

MELENDEZ, R. D.; FORLANO, M. Incidence and intensity of *Babesia* spp. sporokinetes in engorged *Boophilus microplus* from a dairy herd in Venezuela. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 791, p. 148-156, 1996.

MELTZER, M. I., A possible explanation of the apparent breed-related resistance in cattle to bont tick (*Amblyomma hebraeum*) infestations. **Vet. Parasitol.** v. 67, p. 275–279, 1996.

MENDES, M. C.; LIMA, C. K. P.; PEREIRA, J. R. Práticas de manejo para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) em propriedades localizadas na região de Pindamonhangaba, Vale do Paraíba, São Paulo. **Arq. Inst. Biol.** v.75, n.3, p.371-373, 2008.

MENDONÇA, C. L.; VIEIRA, D.; KOHAYAGAWA, A.; SCHENK, M. A. M.; MADRUGA, C. R.; AFONSO, J. A. B. Avaliação clínica e hematológica em bezerros Nelore infectados experimentalmente com isolados de *Babesia bigemina* das regiões Sudeste, Nordeste e Norte do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** v. 23, n. 2, p. 52-60, 2003.

MOSQUEDA, J.; RAMOS, J. A.; FALCON, A.; ALVAREZ, J. A.; ARAGON, V.; FIGUEROA, J. V. *Babesia bigemina* Sporozoite Isolation from *Boophilus microplus* Nymphs and Initial Immunomolecular Characterization. **Ann. N.Y. Acad. Sci.** n.1026. p. 222–231, 2004.

NORVAL, R. H. Host immunity to infestation with *Amblyomma hebraeum*. **Insec. Sc. and Applicat.** v.13, p. 489–494, 1992.

OLIVEIRA, M. C. S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; REGITANO, L. C. A.; ALENCAR, M. M.; NÉO, T. A.; SILVA, A. M.; OLIVEIRA, H. N. Detection of *Babesia bigemina* in cattle of different genetic groups and in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick. **Vet. Parasitol.** v.155, p. 281–286, 2008.

OSAKI, S. C.; VIDOTTO, O.; MARANA, E. R. M.; VIDOTTO, M. C.; YOSHIHARA, E.; PACHECO, R. C.; IGARASHI, M.; MINHO, A. P. Ocorrência de anticorpos anti *Babesia bovis* e estudo sobre a infecção natural em bovinos da raça nelore, na região de Umuarama, Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 11, n. 2, p. 77-83, 2002.

PAYNE, R. C., OSORIO, O. Tick-borne diseases in Paraguay. I. Seroepidemiological studies on anaplasmosis and babesiosis. **Trop. Anim. Hlth. Prod.** v. 22, p. 53–60, 1990.

POWELL, R. T.; REID, T. J. Project Tick Control. **Queensland Agricultural Journal**, Brisbane, v.108, n.6, p.279-300, 1982.

RAMOS, J. A.; ALVAREZ, J. A.; FIGUEROA, J. V.; SOLIS, J.; RODRIGUEZ, R.I.; HERNANDEZ, R.; BUENING, G. M.; CARLOS, A. V. Evaluation of Calorimetric *Babesia bigemina*-DNA Probe Within an Epidemiological Survey. **Mem. Inst. Oswald Cruz.** v. 87. Supl. III, p. 213-217, 1992.

RIBEIRO, M. F. B; SALOEDO, J. H. P; SANTOS, J. L; FARIA, E. J. Epidemiologia das babesioses bovinas no estado de Minas Gerais I. Prevalências de anticorpos fluorescentes na Zona da Mata – MG. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v. 39 n. 3, p. 423-429, 1987.

RIBEIRO, M. F. B.; PASSOS, L. M. F. Tristeza parasitária bovina. **Cad. Téc. Vet. Zootec.**, n.39, p. 36-52, 2002.

RIEK, R. F. The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith and Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). **Aust. J. Agri. Res.** 15(5) 802 – 821, 1964.

RIEK, R.F. The life cycle of *Babesia argentina* (Lignières, 1903) (Sporozoa: Piroplasmidea) in the tick vector *Boophilus microplus*. **Aust. J. Agri. Res.** v. 17, p. 247-254, 1966.

ROCHA, C. M. B. M. Caracterização da percepção dos produtores do município de Divinópolis/MG sobre a importância do carrapato *Boophilus microplus* e fatores determinantes das formas de combate utilizadas. 1995. 25p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1995.

ROCHA, C. M. B. M.; OLIVEIRA, P. R. de; LEITE, R. C. Percepção dos produtores de leite do município de Passos, MG, sobre o carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae), 2001. **Ciênc. Rural.**, v.36, n.4, p.1235-1242, 2006.

SAHIB, H.; RHALEM, A. B.; BERRAG, B.; GOFF, W. L. Seroprevalence and Ticks Associated with Cattle from Two Different Regions of Morocco. **Ann. N. Y. Acad. Scienc.** p. 213 – 218, 1998.

SALEH, M. A. Erythrocytic oxidative damage in crossbred cattle naturally infected with *Babesia bigemina*. **Res. Vet. Sci.** v. 86, p. 43–48, 2009.

SANTOS, H. Q.; LINHARES, G. F. C.; MADRUGA, C. R. Estudo da prevalência de anticorpos anti-*Babesia bovis* e anti-*Babesia bigemina* em bovinos de leite da microrregião de Goiânia determinada pelos testes de imunofluorescência indireta e elisa. **Ciênc. Ani. Bras.** v. 2, n. 2, p. 133-137, 2001.

SHODA, L. K. M., ZARLENGA, D. S., HIRANO, A., BROWN, W. C., Cloning of a cDNA encoding bovine interleukin-18 and analysis of IL-18 expression in macrophages and its IFN-g-inducing activity. **J. Interferon Cytokine Res.** v.19, p.1169–1177, 1999.

SMITH, R.D.; EVANS, D.E.; MARTINS, J.R.; CERESER, V.H.; CORREA, B.L., PETRACCIA, C.; CARDOZO, H.; SOLARI, M.A.; NARI, A. Babesiosis (*Babesia bovis*) Stability in Unstable Environments. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** v. 916, p. 510-520, 2000.

SOUZA, E. J.; PERALVA, S. L. F. S.; REIS, R. C. S.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Avaliação da eficácia do fungo *Metharizium anisopliae* (METSCHNIKOFF, 1879) Sorokin, 1883 em teste de campo com bovinos infestados com carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** São Paulo, v. 6, p. 109, 1997.

SOUZA, J. C. P; SOARES, C. O; SCOFIELD, A.; MADRUGA, C. R.; CUNHA, N. C; MASSARD, C. L; FONSECA, A. H. Soroprevalência de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense. **Pesq. Vet. Bras.** v.20, n. 1, p. 26-30, 2000.

TEGLAS, M.; MATERN, E.; LEIN, S.; FOLEY, P.; MAHAN, S. M.; FOLEY, J. Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses. [Vet. Parasitol. v.131](#), p. 119-127, 2005.

UILENBERG, G. *Babesia*- A historical overview. **Vet. Parasitol.** v. 138, n.1-2, p. 3-10, 2006.

VIDOTTO O.; MCELWAIN T. F.; MACHADO R. Z.; PERRYMAN L. E.; SUAREZ C. E.; PALMER, G. H. *Babesia bigemina*: identification of B cell epitopes associated with parasitized erythrocytes. **Exp. Parasitol.** v. 81, n.4, p.491-500, 1995.

VIEIRA, M. I. B.; LEITE, R. C.; SACCO, A. M. S.; SILVA, J. G. C. Estratégias de controle do carrapato *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) e influência na estabilidade enzoótica da babesiose bovina. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 12, n. 4, p. 139-144, 2003.

WRIGHT I. G.; GOODGER B. V. Pathogenesis of babesioses, In Ristic M. (ed.) *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. **CRC Press, Boca Raton**, Flórida. p. 100-118, 1988.

WAMBURA, P. N.; GWAKISA, P. S.; SILAYO, R. S.; RUGAIMUKAMU, E. A.; Breed-associated resistance to tick infestations in *Bos indicus* and their crosses with *Bos taurus*. **Vet. Parasitol.** v.77, p. 63–70, 1998.

YOUNG, A. S.; MORZARIA, S. P. Biology of *Babesia*. **Parasitol. Today**, v. 2, n. 8, p. 211-219, 1986.

**ANEXO**



## QUESTIONÁRIO

### Parâmetros Inerentes ao Animal

1. Qual o sexo?  
Macho ( ) Fêmea ( )
2. Qual a idade?  
Idade < 12 meses ( )  $12 \leq \text{Idade} \leq 30$  meses ( ) Idade > 30 meses ( )
3. Qual a raça?  
Mestiço com maior grau de sangue europeu ( )  
Mestiço com maior grau de sangue zebu ( )

### Fatores Inerentes as Propriedades

4. Qual o município?  
São Luís ( ) Raposa ( ) Paço do Lumiar ( ) São José de Ribamar ( )
5. Qual a origem dos animais?  
Cidades - dentro do estado do MA ( ) Vizinhos - pertence a ilha de São Luís ( )
6. Qual o objetivo de produção?  
Leite ( ) Carne/Leite ( )
7. Qual o sistema de produção?  
Extensivo ( ) Semi-intensivo ( )
8. Produtos utilizados no controle dos carrapatos?  
Cipermetrina ( ) Outros produtos ( )
9. Qual a época de maior infestação por carrapatos?  
Ano inteiro ( ) Período seco ( ) Período chuvoso ( )
10. Período de controle dos carrapatos?  
3/3 meses ( ) 6/6 meses ( )