

## International Symposium on Tick Control and Tick-borne Diseases

International Symposium



## on Tick control and Tick-borne diseases

15 to 16 April 2013 | Campo Grande, MS, Brazil





# **Documentos 202**

## **International Symposium on Tick Control and Tick-borne Diseases**

*Comissão organizadora:*

Renato Andreotti - Coordenador

Fernando Paiva

Wilson Werner Koller

Jacqueline Cavalcante Barros

Luiz Antonio Dias Leal

Jaqueline Matias

Embrapa Gado de Corte

Brasília, DF

2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Gado de Corte**

Rodovia BR 262, Km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 3368 2090

Fax: (67) 3368 2150

<http://www.cnpvc.embrapa.br>

E-mail: [publicacoes@cnpvc.embrapa.br](mailto:publicacoes@cnpvc.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: *Pedro Paulo Pires*

Secretário-Executivo: *Rodrigo Carvalho Alva*

Membros: *Elane de Souza Salles, Valdemir Antônio Laura, Davi José Bungenstab, Andréa Alves do Egito, Roberto Giolo de Almeida, Guilherme Cunha Malafaia*

Supervisão editorial: *Rodrigo Carvalho Alva*

Revisão de texto e Editoração Eletrônica: *Rodrigo Carvalho Alva*

Arte da capa: *Luiz Antônio Dias Leal*

**1ª edição**

Versão online (2013)

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Embrapa Gado de Corte.**

---

International Symposium on Tick-control and Tick Borne Diseases [recurso eletrônico] / Comissão organizadora : Renato Andreotti ; Fernando Paiva ; Wilson Werner Koller ; Jacqueline Cavalcante Barros ; Luiz Antonio Dias Leal ; Jaqueline Matias. - Campo Grande, MS : Embrapa Gado de Corte, 2013.

80 p. ; 21cm. - (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-974X ; 202).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<http://www.cnpvc.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC202.pdf>> .

Título da página da Web: (acesso em 5 ago. 2013).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader 4 ou Superior.

1. Carrapatos. 2. Controle de carrapatos. 3. Sanidade animal. I. Andreotti, Renato. II. Paiva, Fernando. III. Koller, Wilson Werner. IV. Barros, Jacqueline Cavalcante. V. Leal, Luiz Antonio Dias. VI. Matias, Jaqueline. VII. Workshop.

---

CDD 636.213 (21. ed.)

© Embrapa Gado de Corte 2013

## **Comissão organizadora**

Renato Andreotti - Coordenador  
Fernando Paiva  
Wilson Werner Koller  
Jacqueline Cavalcante Barros  
Luiz Antonio Dias Leal  
Jaqueline Matias

## **Comissão científica**

Wilson Werner Koller  
Alexandre Leitão (Portugal)  
Fernando Paiva  
Fernando de Almeida Borges  
Renato Andreotti

## **Colaboradores**

André de Abreu Rangel Aguirre  
Bárbara Csordes  
Dalízia Montenário de Aguiar  
Driele de Freitas Araújo  
Marcos Valério Garcia  
Marlon Cezar Cominetti  
Robson Ferreira Cavalcante de Almeida  
Rodrigo Casquero Cunha  
Rodrigo Carvalho Alva  
João Costa

# Palestrantes

Lygia Friche Passos

Tema: *In vitro* cultivation of tick cells: a practical system for isolation and propagation of pathogens

País: Brasil

Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

Lenita Ramires dos Santos

Tema: Epidemiology of *Babesia* and *Anaplasma* in Brazil

País: Brasil

Instituição: Embrapa Gado de Corte

Romário Cerqueira Leite

Tema: Tick control associated with other management practices

País: Brasil

Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

Laerte Grisi

Tema: The economic impact of parasitism in cattle in Brazil

País: Brasil

Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ

Matias Pablo Juan Szabó

Tema: Ecology of ticks associated to zoonosis in Brazil

País: Brasil

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Rosangela Zacarias Machado

Tema: Anaplasmataceae family agents in domestic and wild animals.

País: Brasil

Instituição: UNESP – Jaboticabal

Marisa Farber

Tema: Molecular tools for studding tick-borne diseases in Argentina.

País: Argentina

Instituição: INTA

Margaret Saimo-Kahwa  
Tema: Tick borne diseases in Africa  
País: Uganda  
Instituição: Makerere University

Adalberto Perez de Leon  
Tema: Ticks, tick-borne diseases, and changing epidemiological landscapes in the U.S.: implications for human and animal health  
País: Estados Unidos  
Instituição: ARS – Kerrville/USDA

Roger Iván Rodríguez Vivas  
Tema: Current status of *Rhipicephalus microplus* resistant to acaricides and macrocyclic lactones in Mexico  
País: México  
Instituição: Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Autónoma de Yucatán

Marcelo Labruna  
Tema: Epidemiology of spotted fever rickettsiosis in Brazil  
País: Brasil  
Instituição: Universidade de São Paulo – USP

Ala Lew-Tabor  
Tema: *In vitro* tick experimental approaches for antigen evaluation: dsRNA vs antibodies  
País: Austrália  
Instituição: University of Queensland

Alexandre Leitão  
Tema: Equine piroplasmiasis in Portugal  
País: Portugal  
Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa

Francisco Pereira Lobo

Tema: Reverse vaccinology: historic and perspectives

País: Brasil

Instituição: Embrapa Informática Agropecuária

Fábio Pereira Leivas Leite

Tema: Adjuvants: Vaccine allies

País: Brasil

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Renato Andreotti

Tema: Methodologies for evaluation of tick vaccine efficacy

País: Brasil

Instituição: Embrapa Gado de Corte

## Sumário

Defeitos no couro causados por carrapatos: um levantamento em sete estados brasileiros .....	10
Detecção molecular de <i>Rickettsia amblyommii</i> em carrapatos <i>Amblyomma cajennense</i> do pantanal mato-grossense	12
Reverse vaccinology approach to develop an anti-tick vaccine .....	14
Erliquiose felina: estudo sorológico e molecular .....	16
Mitochondrial and nuclear markers in populations of Brazilian <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....	18
Coatis ( <i>Nasua nasua</i> ) as reservoirs and amplifiers pathogens transmitted by ticks.....	20
Consumo de mistura carrapaticida e tempo de duração de banhos por aspersão.....	22
Custo operacional efetivo de quatro técnicas de banho carrapaticida por aspersão .....	24
Eficiência <i>in vitro</i> de acaricidas contra carrapatos de bovinos no município de Canoinhas, SC .....	26

Effect of temperature on cattle tick reproduction and transovarial transmission of <i>Anaplasma marginale</i> .....	28
First molecular evidence of <i>Rickettsia</i> spp. in human blood samples, with clinical and epidemiological profile of tick-borne disease in the Mato Grosso do Sul state .....	30
Cultivo de esporocinetos de babesia bigemina em hemócitos e células embrionárias de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....	32
Identificação da ixodofauna em área urbana e rural da cidade de Campo Grande, MS .....	34
Detecção de <i>Rickettsia</i> spp. em área urbana da cidade de Campo Grande, MS .....	36
Relação entre <i>Amblyomma aureolatum</i> e <i>Amblyomma ovale</i> e diferentes altitudes no estado de São Paulo .....	38
Ação acaricida de 21 plantas nativas do Pantanal sul-matogrossense sobre <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....	40
Atividade acaricida de frações polares e apolares de extratos de 19 plantas do Pantanal sul-matogrossense..	42
Ação acaricida <i>in vitro</i> de <i>Tabebuia</i> spp. sobre <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> .....	44
Avaliação da imunização contra carrapatos com GAVAC® em bovinos europeus em estábulo no Rio Grande do Sul .	46
Resposta eletrofisiológica de poro-sensilas gustativas das quelíceras de <i>Rhipicephalus microplus</i> a compostos fagoestimulantes .....	48
<i>In vitro</i> cultivation of tick cells: a practical system for isolation and propagation of pathogens .....	50
Postick: Post-Graduate Training Network for capacity building to control ticks and tick-borne diseases .....	52

Histopatologia da possível ação do diflubenzuron no controle de <i>Rhipicephalus (B.) microplus</i> .....	54
Ticks (Acari: ixodidae) associated with environment in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil.....	56
Action of <i>Tagetes minuta</i> (Asteraceae) essential oil in the control of <i>Rhipicephalus microplus</i> (Acari: ixodidae).....	58
Pesquisa de anticorpos anti- <i>Rickettsia</i> spp. em equinos do estado de Mato Grosso .....	60
Identificação das infestações por carrapatos em cavalos mangalarga marchador no sul de Minas Gerais .....	62
<i>Amblyomma cajennense</i> : percepção dos criadores de Mangalarga Marchador do sul de Minas Gerais.....	64
Recent advances and perspectives on immunological control of ticks – the cuban experience.....	66
Ticks as bioindicators the presence of <i>Trypanosoma</i> spp. in Campo Grande city, MS, Brazil.....	68
Ocorrência de <i>Amblyomma aureolatum</i> e <i>Haemaphysalis juxtakochi</i> em cachorro-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> ) no Paraná, Brasil.....	70
Aquisição de resistência em cães domésticos a <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , Brasil e Argentina, após infestações sucessivas.....	72
Avaliação do ganho de peso de novilhos submetidos a protocolos quimioprofiláticos contra Tristeza Parasitária Bovina .....	74
Detecção molecular de <i>Anaplasma platys</i> em carrapatos do Chile.....	76
Detecção molecular de <i>Ehrlichia mineirensis</i> em bovinos do estado de Mato Grosso .....	78

# Defeitos no couro causados por carrapatos: um levantamento em sete estados brasileiros

*Alexandra Rocha de Oliveira<sup>1\*</sup>, Manuel Antônio Chagas Jacinto<sup>2</sup>, Mariana de Aragão Pereira<sup>1</sup>, Alfredo Ribeiro de Freitas<sup>3</sup>*

## Resumo

A infestação por carrapatos é um problema recorrente no Brasil e desde o início da prática de criação de gado afeta a qualidade da pele bovina no país. Em um estudo realizado entre os anos de 2008 e 2009 foram avaliados aproximadamente 7.000 couros no estágio *wet blue*, provenientes de sete Estados do Brasil (São Paulo, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Pará, Minas Gerais, Bahia e Rio Grande do Sul), sendo 1.000 couros em cada Estado. A avaliação foi feita nos estabelecimentos de curtimento e levou em consideração a presença ou ausência de defeitos causados pelos carrapatos. Para a análise dos dados de interesse, as variáveis foram organizadas em tabelas de contingência e analisadas por meio de testes de Qui-Quadrado e de Distribuição Binomial, onde se verificou a porcentagem de couros com defeitos em cada Estado. Praticamente todos os couros avaliados continham marcas causadas por carrapatos. Em ordem decrescente de porcentagem de ocorrência estão os Estados: Mato Grosso do Sul (100%); Rio Grande do Sul (99,4%); Bahia (95,5%); Mato Grosso (91,1%); Minas Gerais (90,6%); São Paulo (76,4%) e Pará (72,3%).

<sup>1</sup>Embrapa Gado de Corte. \*alexandra.oliveira@embrapa.br

<sup>2</sup>Embrapa Pecuária Sudeste. manuel.jacinto@embrapa.br

<sup>3</sup>Estatístico. E-mail: alfribeiro@hotmail.com

A predominância do clima tropical no país apresenta temperatura e umidade propícias para o desenvolvimento do ectoparasita. Outra contribuição para a alta ocorrência de defeitos causados pelos carrapatos advém da utilização de raças taurinas em cruzamentos nas propriedades de gado de corte em alguns dos Estados percorridos. As raças taurinas são, sabidamente, menos resistentes aos carrapatos do que as zebuínas. Aliado às características climáticas e genéticas, outro fator pode ter contribuído para a alta incidência do ectoparasita no Brasil, a saber, a resistência adquirida aos quimioterápicos. Imerções e pulverizações em concentrações incorretas de carrapaticidas e em intervalos muito curtos, muitas vezes realizadas nos meses mais quentes do ano, podem constituir metodologias inadequadas uma vez que propiciam a seleção de indivíduos resistentes.

**Palavras-chave:** couro, defeitos, qualidade.

**Parceiro e Apoio Financeiro:** Grupo JBS; Finep.

# Detecção molecular de *Rickettsia amblyommii* em carrapatos *Amblyomma cajennense* do pantanal mato-grossense

Alvair da Silva Alves<sup>1</sup>, Andréia Lima Tomé Melo<sup>1</sup>, Thiago Fernandes Martins<sup>2</sup>, Arlei Marcil<sup>2</sup>, Herbert Sousa Soares<sup>2</sup>, Marcus Vinícius de Amorim<sup>2</sup>, Marcelo Bahia Labruna<sup>2</sup>, Daniel Moura de Aguiar<sup>1</sup>, Richard de Campos Pacheco<sup>1\*</sup>

## Resumo

*Rickettsia* são bactérias intracelulares obrigatórias, pertencente à família Rickettsiaceae e ordem Rickettsiales. Espécies deste gênero estão divididas em dois grupos: i-grupo Tifo (GT), com a *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*; ii-grupo da Febre Maculosa (GFM). No entanto há espécies de riquetsias, como *Rickettsia canadensis* e *Rickettsia bellii*, que não estão inseridas em nenhum deles. O carrapato *Amblyomma cajennense* é reconhecido como o principal vetor da Febre Maculosa Brasileira (FMB), causado pela *Rickettsia rickettsii*, pertencente ao GFM. Apesar da não confirmação de casos de FMB em humanos no Estado de Mato Grosso, trabalhos recentes mostraram, por meio da pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em cães e equinos, alta frequência de títulos, com uma predominância de anticorpos homólogos, principalmente à *Rickettsia amblyommii*. Considerando os equinos como hospedeiros primários para *A. cajennense*, e os cães serem infestados principalmente pelas formas imaturas desta espécie de carrapato, o presente estudo buscou a detecção molecular de *Rickettsia* spp. em carrapatos *A. cajennense* do Pantanal Mato-grossense. Um total de 156 carrapatos

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGVET) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT

<sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP. \*richard@ufmt.br

de vida livre foi coletado em 2011, pelo arraste de flanela, em três áreas do município de Poconé, MT. Os carrapatos foram separados em 52 *pools* de três indivíduos de acordo com o sexo e, então, realizada a extração de DNA. Foram formados 31 *pools* de fêmeas e 21 de machos. O DNA extraído foi submetido à Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) utilizando-se um par de primers que amplifica um fragmento de 401 pares de base (pb) do gene citrato sintase (*gltA*) presente em todas as espécies do gênero *Rickettsia*. Amostras positivas na PCR para o gene *gltA*, foram submetidas à outra reação de PCR buscando amplificar um fragmento de 530 pb do gene da proteína externa de membrana A (*ompA*), presente apenas em riquetsias do GFM. Os produtos amplificados para o gene *ompA* foram sequenciados e analisados para determinar similaridade com outras espécies de riquetsias depositadas no GenBank. Do total de *pools* testados, uma amostra foi positiva para *gltA* e *ompA*. A sequência obtida (407 pb) do gene *ompA* apresentou similaridade de 99% (406/407) com *R. amblyommii* (GC891955). A *R. amblyommii* tem sido detectada em carrapatos no continente americano e, sorologicamente associada a possíveis casos de riquetsioses nos Estados Unidos. Esses resultados comprovam a ampla distribuição dessa bactéria no Brasil, sendo descrita pela primeira vez no Estado, sugerindo a possível participação dessa espécie de carrapatos na transmissão da infecção aos cães e equinos.

**Palavras-chave:** *Rickettsia amblyommii*, *Amblyomma cajennense*, Detecção Molecular, Pantanal mato-grossense.

**Apoio Financeiro:** CNPq e Fapemat.

# Reverse vaccinology approach to develop an anti-tick vaccine

*André de Abreu Rangel Aguirre<sup>1</sup>, Marcos Valério Garcia<sup>2</sup>, Rodrigo Casquero Cunha<sup>1</sup>, Renato Andreotti<sup>2\*</sup>*

## Resumo

Tick infestation may cause several problems on animal health, reducing the production of meat and milk, among others. Ticks can become resistant to acaricide, because of this, started researches for alternative measures, such as vaccines against ticks. The commercially available vaccines aim of prejudicing the gut, so these vaccines are composed of gut antigens. On this basis, was developed a synthetic peptide from protein ATAQ, which is present in the intestines and Malpighi tubes of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. The ATAQ protein has been isolated, characterized and sequenced from several species of the genus *Rhipicephalus*, and an in silicon analysis of this protein showed 93,6% of identity between these species. Based on this, an immunization trial was conducted on rabbits with this synthetic peptide, to check its effectiveness against the dog tick, *R. sanguineus*, specie from which this protein has not been studied. Each rabbit received three doses of vaccine. Each animal on vaccinated group received the 100 ug of peptide diluted in PBS and adjuvanted with Montanide. The control group

<sup>1</sup>Mestrando, Curso de Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

<sup>2</sup>Pós-Doutorando, Bolsista CNPq, Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

<sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. \*renato.andreotti@embrapa.br

was vaccinated only with the adjuvant and PBS. After immunization, each rabbit was infested with the three life stages of *R. sanguineus*, in order to verify the effect of the immunization in all instars of this specie. The sera of the rabbits were collected and subjected to ELISA, to trace the total IgG antibody profile. All parameters of the life cycle of the ticks were evaluated. The partial results of this trial showed a curve of antibody production in only one rabbit. This result was consistent with the results of the evaluation of the life cycle of the tick, which yielded significant reduction in most of the evaluated reproductive parameters. Immunohistochemistry and histopathology of ticks will be done to detect ATAQ on the surface of the gut cells and to characterize damage on guts, respectively. These results conclude that there is damage in the life cycle of the tick, and that more researches should be conducted in order to develop an effective anti-tick vaccine.

**Keywords:** ATAQ, immunization, rabbits, *R. sanguineus*, synthetic peptide.

**Partners and Financial Support:** Embrapa Gado de Corte, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFMS, Capes, CNPq e Fundect.

# Erliquiose felina: estudo sorológico e molecular

*Andresa Guimarães<sup>1</sup>; Juliana Macedo Raimundo<sup>1</sup>, Marcos Rogério André<sup>2</sup>, Maristela Peckle Peixoto<sup>3</sup>, Raísa Brául Rodrigues<sup>1</sup>, Huarrisson Azevedo Santos<sup>1</sup>, Carlos Luiz Massard<sup>3</sup>, Rosângela Zacarias Machado<sup>2</sup>, Cristiane Divan Baldani<sup>1</sup>*

## Resumo

Dentre as diversas enfermidades que acometem os gatos, as hemoparasitoses apresentam grande importância médica-veterinária devido aos sinais clínicos causados pela infecção que, em casos agudos, podem levar a morte. *Ehrlichia* sp., adicionalmente, possui importância médica por se tratar de zoonose, cujo risco de infecção se agrava com a intensa convivência entre estes animais e seres humanos. A erliquiose felina é causada por bactérias gram-negativas, pleomórficas e intracelulares obrigatórias que se alojam em leucócitos ou plaquetas. Embora *Ehrlichia canis* seja amplamente estudada em cães, poucos são os relatos da sua ocorrência em gatos. O presente estudo tem como objetivo diagnosticar felinos domésticos no Rio de Janeiro infectados naturalmente por *Ehrlichia* sp. por meio de métodos sorológico e molecular, bem como avaliar as alterações hematológicas associadas a esta infecção. Foram amostrados 100 felinos domésticos da região Metropolitana do estado do Rio de Janeiro. A detecção de anticorpos IgG anti-*Ehrlichia canis* foi realizada por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), utilizando como ponto de corte 1:64. O

<sup>1</sup>Instituto de Veterinária/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista (UNESP) Campus Jaboticabal

<sup>3</sup>Projeto Sanidade Animal/UFRRJ

diagnóstico molecular para *Ehrlichia* sp. foi efetuado por meio da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR), baseada em um fragmento de 350 pb do gene 16S rRNA. Trinta e três felinos (33%) mostraram-se soropositivos frente ao antígeno de *E. canis*. Na PCR, 23 (23%) animais mostraram-se positivos para *Ehrlichia* sp., dos quais apenas onze (11%) apresentaram inclusões do parasita em plaqueta e/ou leucócitos na detecção direta em esfregaço sanguíneo. Cinco animais (5%) mostraram-se positivos concomitantemente para as técnicas diretas e indiretas de diagnóstico utilizadas neste estudo. As alterações hematológicas mais frequentemente observadas entre os animais positivos para *Ehrlichia* sp. foram anemia normocítica normocrômica, leucocitose com neutrofilia e discreto desvio nuclear neutrofilico à esquerda e trombocitopenia. Tais achados confirmam a circulação de *Ehrlichia* sp. entre gatos no Rio de Janeiro. Apesar da importância da erliquiose na infecção de felinos, poucos estudos são desenvolvidos no Brasil abordando esta temática. Portanto, tornam-se necessárias investigações a fim de melhor caracterizar este agente e os aspectos envolvidos na sua transmissão.

**Palavras-chave:** gatos, *Ehrlichia* sp., RIFI, PCR.

**Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq.

# Mitochondrial and nuclear markers in populations of Brazilian *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

*Bárbara Guimarães Csordas*<sup>1\*</sup>, *Rodrigo Casquero Cunha*<sup>2</sup>, *Marcos Valério Garcia*<sup>3</sup>, *Robson Ferreira Cavalcante de Almeida*<sup>2</sup>, *Marlon Cesar Cominetti*<sup>2</sup>, *Renato Andreotti*<sup>4</sup>

## Resumo

The tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* is the most important bovine herd ectoparasites and it can be found in tropical and subtropical areas. Among parasites found in bovines, this tick is responsible for major economic losses in different regions of the world. That said there's a large amount of studies for control and prevention of this parasite. The use of molecular techniques like markers for the study of ticks has developed new ideas within population structures and taxonomical relations. For individually or population related studies, interspecific and intraspecific polymorphism are analyzed, which allows an evaluation of philogeographic patterns using mitochondrial and nuclear alleles through sequences of mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 and nuclear internal transcribed spacer 2. This evaluation with these markers may characterize the genetic diversity inside and between populations of *R. (B.) microplus*. In Ixodidae, the nuclear internal transcribed spacer 2 may be useful to evaluate the existence of

<sup>1</sup>Mestranda, Curso de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP), UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, barbara\_csordas@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Doutorando, DIP/UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>3</sup>Pós-Doutorando, bolsista CNPq; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

critical species (morphologically similar, but genetically distinct). These markers are commonly used for primers designs in polymerase chain reaction, sequencing and posterior phylogenetic analysis. The variation within populations is usually analyzed using statistical patterns to detect the amount of haplotype unique, number of segregating sites, haplotype diversity and nucleotide diversity. This is possible by the use of ARLEQUIN 3.1 software. Uncorrected pair wise distance matrices may be obtained by MEGA software version 4. For the construction of phylogenetic trees, usually used "Bayesian inference", with maximum likelihood, maximum parsimony and neighbor-joining methods by PAUP software version 4.0. Studies like this may contribute with the interpretation of molecular ecology and the development of future methods of control against this organism.

**Keywords:** COX1, ITS2, phylogenetic relationship, philogeographic relationship, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

**Financing organizations:** UFMS, Capes, CNPq, Embrapa.

# Coatis (*Nasua nasua*) as reservoirs and amplifiers of pathogens transmitted by ticks

Barbara Guimarães Csordas<sup>1\*</sup>, Robson Ferreira Cavalcante de Almeida<sup>2</sup>, Marlon Cesar Cominetti<sup>2</sup>, Rodrigo Casquero Cunha<sup>3</sup>, Marcos Valério Garcia<sup>4</sup>, Renato Andreotti<sup>5</sup>

## Resumo

Coatis (*Nasua nasua*) are able to adapt to different environments, including urban forests, and move between urbanized areas and native forests. This large distribution has led to an increase in their population within anthropic areas, which can subsequently facilitate the transmission of biological agents to domestic animals and human beings. In coatis, a variety of ticks vectors of pathogens, have been reported, including *Amblyomma cajennense* and *A. ovale*. With the objective of identifying the presence of *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp. and *Babesia* spp., 55 blood samples of coati's free living were collected by jugular venipuncture. The animals were captured in Tomahawk-style traps with authorization (no. 29430-1) by the Department of the Environment, and were sedated using a combination of tiletamine and zolazepam (Zoletil®) according to the manufacturer's recommendations. DNA was extracted

<sup>1</sup>Mestranda, Curso de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP), UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, \*barbara\_csordas@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Doutorando, DIP/UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>3</sup>Doutorando, Ciência Animal da UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>4</sup>Pós-Doutorando, bolsista CNPq; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

the blood e analyzed by PCR using primers ECC/ECB for *Ehrlichia* spp., ANA F/ANA R for *Anaplasma* spp. and KB 16/KB 17 for *Babesia* spp. Of the 55 samples analyzed 6 were positives to *Ehrlichia* spp., 18 to *Anaplasma* spp. and 2 were positive for *Babesia* spp. These samples will be processed using specific primers and positive samples will be sequenced, however, these initial results serve as a warning to importance of these animals as reservoirs and amplifiers of pathogens of importance in Veterinary Medicine and Public Health.

**Palavras-chave:** *Nasua nasua*, tick borne diseases, ticks, wildlife animals.

**Órgãos de Financiamento:** UFMS, Capes, CNPq, Fundect, Embrapa.

# Consumo de mistura carrapaticida e tempo de duração de banhos por aspersão

*Daniel Sobreira Rodrigues<sup>1\*</sup>, Rebeca Passos Bispos Wanderley Muller<sup>2</sup>, Anderson Barbieri de Barros<sup>2</sup>, Paulo de Oliveira<sup>1</sup>, Romário Cerqueira Leite<sup>2</sup>*

## Resumo

Embora o tempo de duração e o consumo de mistura carrapaticida sejam importantes fatores na composição do custo do procedimento de banho, não foram encontrados trabalhos científicos acerca do assunto na literatura disponível, mas apenas relatos, estimativas e recomendações técnicas. O objetivo deste estudo foi mensurar e comparar os referidos parâmetros para as técnicas de banho por aspersão: Usual, Pulverizador Costal Manual, Câmara Atomizadora e Pulverizador Estacionário Motorizado. Para tal, foram utilizados quatro grupos de 20 vacas de aptidão leiteira, e cada grupo foi submetido a 14 banhos por meio de uma das técnicas. O tempo de duração foi mensurado por meio de cronômetro digital e o consumo de mistura, por meio da diferença entre a mistura preparada e a utilizada. Os valores de média e desvio padrão para tempo (s) e consumo (L) por animal, respectivamente para cada técnica avaliada, foram: 01 min 12 s  $\pm$  38 s e 4,29  $\pm$  1,48 L; 04 min 38 s  $\pm$  27 s e 3,68  $\pm$  0,33 L; 05 s  $\pm$  02 s e 3,78  $\pm$  0,60 L; 01 min 32 s  $\pm$  12 s e 3,37  $\pm$  0,84 L. Foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para a avaliação estatística. Os maiores valores de tempo observados para a técnica utilizando Pulverizador Costal Manual

<sup>1</sup>Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG; <sup>2</sup>Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – EV/UFGM. \*dsrodrigues@epamig.br

( $p < 0,000...$ ) demonstraram sua desvantagem em relação aos equipamentos motorizados. Já a técnica Câmara Atomizadora apresentou tempos médios muito inferiores aos demais ( $p < 0,000...$ ), demonstrando, nesse quesito, superioridade do procedimento de aspersão mecanizada em relação aos realizados por meio de um operador. Não foram observadas diferenças significativas entre a técnica Usual e Pulverizador Estacionário Motorizado. Em relação ao consumo, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Ainda assim, embora todas as técnicas tenham sido consideradas satisfatórias, os maiores valores de consumo para a técnica Usual foram atribuídos à aspersão por meio de esguicho e a falta de contenção dos animais. Para a técnica Câmara Atomizadora, os reduzidos tempos de duração do procedimento não implicaram em redução de consumo de produto, pois a calda é recirculada, e o consumo se relaciona principalmente ao arraste promovido pelos animais, além de perdas por deriva e vazamentos. As observações obtidas neste estudo não são suficientes para caracterizar a superioridade de uma técnica em relação à outra. Para isso são necessários estudos sobre a eficiência na redução da carga parasitária e avaliações da adequação dos equipamentos para o uso em condições de campo.

**Palavras-chave:** *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, eficiência, banho, aspersão, carrapaticida.

**Parcerias e/ou Apoio Financeiro:** MAPA, CNPq, Fapemig, INCT em Informação Genético-Sanitária.

# Custo operacional efetivo de quatro técnicas de banho carrapaticida por aspersão

*Daniel Sobreira Rodrigues<sup>1\*</sup>, Rebeca Passos Bispos Wanderley Muller<sup>2</sup>, Anderson Barbieri de Barros<sup>2</sup>, Romário Cerqueira Leite<sup>2</sup>*

## Resumo

O custo do banho carrapaticida é uma das principais formas de prejuízo indireto atribuídas ao *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Na literatura, são poucos os estudos sobre o assunto, todos realizados a partir de questionários e/ou recomendações de bulas e manuais. O objetivo deste trabalho foi avaliar o custo operacional efetivo (COE) do banho carrapaticida realizado por meio das técnicas: Usual, Pulverizador Costal Manual, Câmara Atomizadora e Pulverizador Estacionário Motorizado. Para o cálculo, foram utilizadas observações relativas a 14 banhos realizados em quatro grupos de 20 vacas, sendo um grupo para cada técnica. Os valores de COE foram obtidos por meio de soma das despesas com mão de obra e produto carrapaticida. Os custos de mão de obra foram obtidos multiplicando-se a média do tempo de duração do banho pelo número de operadores utilizados e pelo valor da hora trabalhada. Os custos com produto carrapaticida foram calculados multiplicando-se a média de consumo, pelo preço do produto. Foram considerados os valores de R\$ 102,00 para o litro de produto carrapaticida, de R\$ 678,00 para o salário mínimo e de R\$ 1,97 para a cotação do dólar comercial em 05/03/2013. O valor de R\$ 8,02 para uma hora de trabalho foi

---

<sup>1</sup>Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG; <sup>2</sup>Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – EV/UFMG. \*dsrodrigues@epamig.br

obtido somando-se ao valor de dois salários mínimos, o percentual de 42,04% referente aos encargos trabalhistas, dividindo-se por 30 – referentes ao número de dias do mês –, e dividindo-se por oito, referentes ao número de horas de trabalho por dia. Para 100 animais, os valores das despesas com mão de obra e produto carrapaticida, respectivamente para cada técnica, foram: R\$ 16,04 e R\$ 72,93; R\$ 55,17 e R\$ 65,52; R\$ 1,34 e R\$ 64,26; R\$ 42,32 e R\$ 53,14. Já para o COE, os valores em reais e em dólares, foram: R\$ 88,97 e U\$ 45,16; R\$ 120,69 e U\$ 61,26; R\$ 65,60 e U\$ 33,29; R\$ 95,46 e U\$ 48,45. As despesas com consumo de produto foram maiores do que com mão de obra, em todas as situações. Entretanto, a mão de obra apresentou maior participação nas diferenças observadas entre os valores de COE. A técnica, Pulverizador Estacionário Motorizado, utilizando dois operadores, apresentou menores gastos com a remuneração de funcionários do que Pulverizador Costal Manual com apenas um, demonstrando a importância da redução do tempo despendido na atividade. Os valores obtidos neste estudo indicam que o COE para banho carrapaticida pode ter apresentado aumento real em mais de 100% nos últimos 30 anos.

**Palavras-chave:** *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, mão de obra, consumo, impacto econômico, prejuízo.

**Parcerias e/ou Apoio Financeiro:** MAPA, CNPq, Fapemig, INCT em Informação Genético-Sanitária.

# Eficácia *in vitro* de acaricidas contra carrapatos de bovinos no município de Canoinhas, SC

Andrea de Souza Rita<sup>1</sup>, Samuel Reisdorfer<sup>2</sup>, Daniela Pedrassani<sup>3\*</sup>

## Resumo

O uso indiscriminado de acaricidas no controle do carrapato-do-boi contribui para o aparecimento de populações com resistência a essas bases químicas. O estudo avaliou a eficácia *in vitro* de teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas contra carrapatos de bovinos de corte em uma propriedade do município de Canoinhas, no Planalto Norte Catarinense. As teleóginas foram coletadas em novembro de 2012, em uma propriedade rural com 170 animais da raça Normando, naturalmente infestados, com idades entre seis meses e doze anos. As análises foram realizadas no Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade do Contestado pelo teste de biocarrapaticidograma. As teleóginas foram selecionadas por vitalidade, pesadas e separadas em grupos de vinte. Os acaricidas usados nos testes foram preparados a partir do produto comercial e diluídos em água destilada, segundo recomendações do fabricante: amitraz (0,025%); associação de cipermetrina (0,01875%), clorpirifós (0,03125%) e citronela (0,00125%) e, deltametrina (0,0025%). Foi usado um grupo controle, imerso em água destilada. As imersões aos acaricidas dos grupos testes e grupo

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade do Contestado - UnC, Canoinhas, SC

<sup>2</sup>Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, UnC, Bolsista PIBIC-CNPq

<sup>3</sup>Doutora, Docente Curso de Medicina Veterinária, UnC. \*daniela@unc.br

controle foi por cinco minutos, em seguida, as teleóginas foram secas com papel toalha e acondicionadas em placas de Petri, identificadas e mantidas em temperatura ambiente no laboratório por 16 dias. A umidade relativa (acima de 75%) e a temperatura diária no laboratório (25 a 28°C) foram aferidas através de um termohigrômetro instalado no local. Os grupos foram avaliados pelos seguintes parâmetros biológicos: peso das teleóginas; peso de postura; taxa de eclosão; eficiência reprodutiva, e eficácia do acaricida. Os três carrapaticidas testados apresentaram as seguintes eficácias médias: deltametrina (35,9%); amitraz (100%) e, cipermetrina/ clorpirifós/ citronela (99,2%). O estudo revelou a existência de resistência de populações de *R. (B.) microplus* frente à deltametrina, carrapaticida de contato que havia sido mais utilizado nessa propriedade de exploração pecuária. Havia constantes queixas do proprietário com relação à baixa eficácia dos carrapaticidas, porém os testes indicaram sensibilidade ao amitraz e a associação cipermetrina/ clorpirifós/ citronela, bases que podem auxiliar no controle de carrapatos na propriedade objeto da presente avaliação. Novos estudos estão sendo realizados na região para conhecer o perfil de um número maior de propriedades.

**Palavras-chave:** *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, carrapaticida, resistência, bovino.

# Effect of temperature on cattle tick reproduction and transovarial transmission of *Anaplasma marginale*

Esteves, E.<sup>1\*</sup>; Pohl, P. C.<sup>1</sup>; Rosa, R.D.<sup>1</sup>; Balanco, J. M.<sup>1</sup>; Klafke, G. M.<sup>2</sup>; Reck, J.<sup>2</sup>; Fogaça, A. C.<sup>1</sup>; Martins, J. R.<sup>2</sup>; Daffre, S.<sup>1</sup>

## Resumo

In Brazil the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* has been incriminated as vector of *Anaplasma marginale*, a pathogen that causes anaplasmosis in cattle. Some studies have demonstrated the male ticks have an importance in the transmission of *A. marginale* due to their mobility among cattle. In addition, the intrastadial and transtadial transmissions of *A. marginale* have been demonstrated, but the transovarial transmission is still controversial. In the present study the effect of temperature on reproduction of the tick *R. (B.) microplus* and the transovarial transmission of *A. marginale* were investigated. Tick larvae were fed on calves infected with *A. marginale* strain Jaboticabal (State of São Paulo, Brazil). The engorged females were kept at 18°C or 28°C with 80% humidity. After oviposition, eggs were weighted and maintained at 18°C or 28°C for larvae hatching. The presence of *A. marginale* was analyzed in eggs and larvae by TaqMan (qPCR) for the *msp5* gene. The weight of eggs laid by females kept at 18°C was significantly lower than those kept at 28°C, reflecting a lower rate of fecundity. Moreover, larvae hatching was absent in eggs kept at 18°C.

<sup>1</sup>Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Parasitologia, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Eldorado do Sul, Brasil. \*eliesteves@usp.br

The presence of *A. marginale* was not detected in either egg (n = 115) or larval (n = 80) samples from females incubated at both temperatures. Additionally, in cultures of tick embryonic cell line (BME26) incubated at either 28°C or 34°C was not observed differences in total number of *A. marginale*, supporting that temperature has no effect on *A. marginale* growth. Altogether, our results show that temperature changes can effect tick reproductive development but not the transovarial transmission and growth of *A. marginale*. The lack of evidence of transovarial transmission of *A. marginale* reinforces the vectorial capacity of male ticks.

**Keywords:** *Anaplasma marginale*, temperature, tick.

**Financial support:** Fapesp, Capes, CNPq and INCT-EM.

# First molecular evidence of *Rickettsia* spp. in human blood samples, with clinical and epidemiological profile of tick-borne disease in the Mato Grosso do Sul state

*Izaías Pereira da Costa<sup>1</sup>, Robson Ferreira Cavalcante de Almeida<sup>1</sup>, Elder Yanazi Oda<sup>1</sup>, Barbara Guimarães Csordas<sup>1</sup>, Bruno Martins Ferreira de Andrade<sup>2</sup>, Rodrigo Casquero Cunha<sup>1</sup>, Tomé Gustavo Marques de Souza<sup>3</sup>, Renato Andreotti<sup>4</sup>\**

## Resumo

Patient 44 years, male, farm worker, non-drinker and non-smoker, born and residing in MS, previously healthy, was admitted for investigation of fever (38.5 to 40°) recurrent for 1 year, associated with confusion, diplopia, confused speech ("dragged"), axial and appendicular ataxia, imbalance and difficulty while walking with "dance of the tendons"; generalized tonic-clonic seizures, dysphagia transmission (including liquid), asymmetric migratory arthritis of large joints (mainly left shoulder and right knee) and later small joints (proximal interphalangeal and wrists). By verification of positive epidemiology for tick borne disease, associated with the patient's report of contact and constant tick-bite, was suggested diagnosis of Lyme disease-like. The patient was treated, in home care, with ceftriaxone 1g 12/12 h for 30 days and then maintained with doxycycline 100 mg 12/12h, with clinical remission. As the patient had complete remission with this treatment, he stopped using the drug, and after stopped developed recurrent disease with neurological and articulate signs. It was por-

<sup>1</sup>FAMED – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS, Campo Grande, MS

<sup>2</sup>Neurosurgery Service of Santa Casa

<sup>3</sup>Rheumatology Department of NHU/UFMS

<sup>4</sup>Embrapa Beef Cattle, Campo Grande, MS, \*andreotti@cnpgc.embrapa.br

trayed with the same scheme, with full recovery and remains asymptomatic and with doxycycline use. Later it was verified that the Lyme-like serology was negative for antibodies against *Borrelia* spp. Having new clinical recurrence, after discontinuation of doxycycline, we send samples for PCR of *Borrelia* spp., *Babesia* spp. and *Rickettsia* spp. In laboratory, the blood sample was subjected to DNA extraction, protocol using a combination of guanidine isothiocyanate and phenol. The extraction buffer was prepared the day before the procedure, adding one volume of phenol in an amount of guanidine isothiocyanate (6 M) and incubated at 4°C overnight. The DNA was incubated overnight for rehydration. The samples were then quantified GeneQuant™ spectrophotometer (Pharmacia) and the concentration of total DNA from each sample were adjusted to 200 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup>. The PCR was utilized for detection of *Rickettsia* spp., using the primers CS 78F (GCA-AGTATCGGTGAGGATGTAAT) and CS 323R (GCTTCCTTAAAATTCA-ATAAATCAGGAT) which target a partial sequence synthase citrate gene (gltA), delimiting a 401-bp fragment. The sequence of this gene is relatively well conserved in all *Rickettsia* spp. Positive sample was subjected to second PCR with primers Rr 190.70p (ATGGCGAATATTCTCCAAA) and Rr 190.602n (AGTGCAGCATTGCTCCCCCT) that amplified a fragment of 732 bp of the ompA gene of *Rickettsia* spp.

**Keywords:** Tick borne diseases, *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., rickettsiosis.

**Financial support:** UFMS, CAPES, CNPq, Fundect, Embrapa.

# Cultivo de esporocinetos de babesia bigemina em hemócitos e células embrionárias de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Jania de Rezende<sup>1\*</sup>, Charles P. Range<sup>2</sup>, Aivaldo H. Fonseca<sup>2</sup>, Douglas McIntosh<sup>2</sup>

## Resumo

Os hemoparasitos de bovinos, como a *Babesia bigemina*, são intensamente estudados, devido às suas respectivas importâncias na economia pecuária mundial. Culturas de hemócitos e células embrionárias de carapatos constituem excelentes substratos para o cultivo, isolamento e estudo da biologia de hemoparasitos patogênicos, incluindo a *B. bigemina*. O presente estudo teve como objetivos cultivar in vitro, esporocinetos de *B. bigemina* em hemócitos e em células embrionárias de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Após desinfecção superficial de fêmeas ingurgitadas, a hemolinfa infectada naturalmente com *B. bigemina*, foi coletada e transferida para frascos de cultura com 25 cm<sup>2</sup> e tubo de 10 cm<sup>2</sup> e incubados a 28°C. Foram realizadas PCR para *B. bigemina* e *B. bovis*, utilizando dois pares de iniciadores para identificar o gene 18SrRNA para ambas as espécies e também foi realizada a morfometria dos esporocinetos para confirmação da espécie. Produtos de PCR foram tratados com IT-Exo-Sap (USB) e sequenciados em ambas as direções, produtos de reação foram analisados em um Prism 3700 automatizado, e as sequências foram realizadas utilizando Sequencher (Versão 4.10.1). Esporocinetos de *B. bigemina* criopreservados a partir da cultu-

<sup>1</sup>Universidade Católica Dom Bosco – UCDB. \*jan\_rezende@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.

ra de hemócitos, foram descongelados, reativados em hemócitos livres de infecção e em células de linhagem CTVM/BME2. Observou-se o desenvolvimento dos esporocinetos de *B. bigemina* a partir do primeiro dia do cultivo, após reativação nas células. Os protozoários apresentaram boa motilidade e capacidade de aderência na membrana celular pela extremidade apical. No citoplasma dos hemócitos foram observadas formas redondas, móveis e com núcleo visível de esporocinetos de *B. bigemina*. Nas amostras coradas do 3<sup>o</sup> e 17<sup>o</sup> dia do cultivo de esporocinetos de *B. bigemina* em hemócitos foram observadas formas íntegras piriformes de esporocinetos imaturos e maduros, com núcleo corado de vermelho escuro, às vezes, centralizado ou próximo da extremidade apical. Nas amostras do 17<sup>o</sup> dia de cultivo foram observadas muitas formas pequenas redondas e ovais, compatíveis com esporocinetos imaturos. Pela técnica PCR foi possível a amplificação do DNA para o gene 18SrRNA de *B. bigemina*, assim como pelo estudo comparativo das mensurações dos esporocinetos. Os hemócitos e células embrionárias de *R. (B.) microplus* foram substratos eficientes para cultivo *in vitro* de esporocinetos de *B. bigemina*, bem como a criopreservação de *B. bigemina* o que permitiu a manutenção do protozoário em laboratório. A análise da sequência comparativa revelou homologia das sequências de nucleotídeos de 100%, com sequências depositadas no GenBank para *B. bigemina* (número de acesso Genbank FJ426361 e DQ785311).

**Palavras-chave:** Célula de carrapato, Criopreservação, *Babesia* spp.

**Parcerias e/ou Apoio Financeiro:** UFMG, Faperj, CNPq.

# Identificação da ixodofauna em área urbana e rural da cidade de Campo Grande, MS

Jaqueline Matias<sup>\*1</sup>, Marcos Valério Garcia<sup>2</sup>, André de Abreu Rangel Aguirre<sup>3</sup>, Renato Andreotti<sup>4</sup>

## Resumo

Carrapatos são parasitas hematófagos obrigatórios frequentemente encontrados na maioria dos animais vertebrados, e que podem transmitir uma grande variedade de agentes patogênicos. O objetivo neste trabalho foi identificar as espécies de carrapatos presentes em três áreas da cidade de Campo Grande, MS. O estudo foi realizado em três fragmentos de mata nativa, sendo dois nas dependências da Embrapa Gado de Corte em Campo Grande, consideradas áreas rurais e uma área urbana nas dependências da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Os carrapatos foram capturados no período de um ano utilizando sete armadilhas de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) por coleta, em cada área, e por contato visual na vegetação. Realizaram-se seis coletas nas dependências da universidade, totalizando 212 ninfas de *Amblyomma* spp. e 677 adultos, sendo 51 pertencentes à espécie *Amblyomma dubitatum* e 626 *A. cajennense*. Nas demais áreas as coletas estão em andamento. Até o momento foram identificadas

<sup>1</sup>Doutoranda em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil. \*jaqmatias@hotmail.com

<sup>2</sup>Pós-Doutorando, bolsista CNPq; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>3</sup>Mestrando, Curso de Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

<sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS.

apenas duas espécies de carrapatos, no qual, destacou-se a espécie *A. cajennense*, esta é considerada a principal responsável por transmitir a Febre Maculosa Brasileira (FMB). A identificação de uma espécie em uma determinada região é importante pela disponibilização pura e simples desta informação, como também, contribui para o conhecimento da taxonomia, ecologia e epidemiologia dessas populações, oferecendo subsídios às autoridades responsáveis pela política pública com vistas ao seu controle, tanto do ponto de vista econômico como com respeito à preservação da saúde pública.

**Palavra-chave:** Epidemiologia, carrapatos, área urbana; fragmento de mata.

**Parcerias e/ou Apoio Financeiro:** Embrapa Gado de Corte, UFMS, CNPq, Fundect.

# Detecção de *Rickettsia* spp. em área urbana da cidade de Campo Grande, MS

Jaqueline Matias<sup>\*1</sup>, Marcos Valério Garcia<sup>2</sup>, Renato Andreotti<sup>3</sup>

## Resumo

Os carrapatos são ectoparasitas responsáveis por transmitirem aos animais, e inclusive aos seres humanos, uma grande variedade de agentes patogênicos. A Febre Maculosa Brasileira (FMB) apresenta-se no país como doença infecciosa aguda, de gravidade variável, determinada por *Rickettsia rickettsii* e, pelo que se conhece até o momento, é transmitida principalmente por carrapatos do gênero *Amblyomma* spp. Neste trabalho teve-se por objetivo detectar a presença de riquetsias do grupo da FMB em carrapatos e capivaras em área urbana da cidade de Campo Grande, MS. Os carrapatos e as capivaras serão coletados em dois pontos localizados na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul: o primeiro ponto é referente à área de reserva florestal, nas dependências do Hospital Dia, e o segundo defronte ao Centro de Controle de Zoonoses. Os carrapatos serão coletados utilizando armadilhas de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e por contato visual na vegetação, e as capivaras capturadas com o auxílio de rede e sedadas utilizando associação de tiletamina e zolazepan. As coletas serão realizadas durante três anos. Os carrapatos serão submetidos ao teste de hemolinfa, extração

<sup>1</sup>Doutoranda em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil. \*jaqmatias@hotmail.com

<sup>2</sup>Pós-Doutorando, bolsista CNPq; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

de DNA e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando-se os primers CS 78 e CS 323. Os produtos da PCR serão visualizados em gel de agarose 3% e corados com brometo de etídeo. O soro proveniente das capivaras será utilizado para o teste de Imunofluorescência indireta. Foram realizadas até o momento seis coletas com sete armadilhas de CO<sub>2</sub> cada, totalizando 889 carrapatos, sendo 212 ninfas de *Amblyomma* spp. e 677 adultos, sendo 51 pertencentes à espécie *Amblyomma dubitatum* e 626 *Amblyomma cajennense*. Foi destinado para o teste de hemolinfa 10% dos carrapatos capturados e nenhum apresentou resultado positivo. Os demais testes estão em andamento. A bactéria *Rickettsia* foi recentemente detectada em duas espécies de carrapatos na cidade de Campo Grande, o que, desta forma, torna fundamental o estudo de risco da população local, considerando principalmente a proximidade dos animais selvagens e a sua capacidade de adaptação em ambientes antropomorfizados.

**Palavras-chave:** carrapatos, animais selvagens, fragmento de mata, capivara.

**Parcerias e/ou Apoio Financeiro:** Embrapa Gado de Corte, UFMS, CNPq, Fundect.

# Relação entre *Amblyomma aureolatum* e *Amblyomma ovale* e diferentes altitudes no estado de São Paulo

Jonata de Melo Barbieri<sup>1\*</sup>, Marcelo Bahia Labruna<sup>2</sup>, Edna Lopes<sup>3</sup>, Fábio Raphael Pascoti Bruhn<sup>3</sup>, Juliana Ribeiro Lucci<sup>4</sup>, Christiane M. B. M da Rocha<sup>5\*</sup>

## Resumo

Com o objetivo de analisar a distribuição de *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum*, e avaliar a relação entre a ocorrência com as altitudes das cidades do Estado de São Paulo (SP), foram utilizados os dados da coleção de carrapatos do setor de Parasitologia da FMVZ/USP. Foi montado um banco de dados analisado no PASW 18.0 e BrOfficeCalc. Foi utilizado o programa ArcGIS 10.1 da empresa ESRI (Environmental Systems Research Institute). Para a geocodificação dos dados de ambos os carrapatos estudados foram utilizadas malhas cartográficas de destaque para os municípios do Brasil do IBGE e das áreas remanescentes de Mata Atlântica, retirado do site Mapas SOS – ONG SOS Mata Atlântica e Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). Foram utilizadas como referência espacial as cidades de ocorrência dos *A. ovale* e *A. aureolatum*. Para confecção dos mapas foi utilizado score de número de relatos de cada espécie/município. A variável altitude não apresentava normalidade (teste de

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Lavras. jonata\_melobarbieri@hotmail.com

<sup>2</sup>Co-orientador Prof. Dr. Adjunto de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

<sup>3</sup>Doutorando (a) em Ciências Veterinárias UFLA

<sup>4</sup>Mestrando em Ciências Veterinárias UFLA

<sup>5</sup>Orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr. Adjunta de Epidemiologia Veterinária da UFLA. rochac@dmv.ufla.br

Kolmogorov-Smirnov), portanto, as análises descritivas foram feitas por Mediana (Me) e desvios interquartílicos (DI). Foi utilizada a análise de Mann-Whitney para avaliar a diferença entre altitudes das cidades com ocorrência de cada espécie, e o teste de Spearman para avaliar a correlação entre a altitude e o número de relatos. É possível visualizar nos mapas que a distribuição de *A. aureolatum* predomina nas regiões de Mata Atlântica, já o *A. ovale* é mais dispersa. Há ocorrência maior de *A. ovale* nas regiões Litorâneas e de *A. aureolatum* em regiões de altas altitudes. As cidades com relatos de *A. ovale* apresentaram altitude menor ( $p < 0,01$ ) (Me = 563, DI = 666,5) que aquelas com relatos de *A. aureolatum* (Me = 757,5, DI = 112). Observou-se correlação negativa ( $p < 0,01$ ;  $r = -0,499$ ) entre a presença de *A. ovale* e a altitude e positiva ( $p < 0,01$ ;  $r = 0,518$ ) entre *A. aureolatum* e a altitude. Concluiu-se que, para os municípios do Estado de São Paulo, quanto maior a altitude, maior a chance de se encontrar *A. aureolatum*, e o contrário foi observado com respeito à espécie *A. ovale*. Tais resultados podem ser explicados pela formação de microclimas específicos, que criam ambientes favoráveis a cada espécie.

**Palavras-chave:** carrapato, geodistribuição, Mata Atlântica.

# Ação acaricida de 21 plantas nativas do Pantanal sul-mato-grossense sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Larissa Bezerra dos Santos<sup>1\*</sup>, Juliana Kátia Souza<sup>2</sup>, Barbara Papassoni<sup>2</sup>, Dyego Gonçalves Lino Borges<sup>1</sup>, Jeana Mara Escher de Souza<sup>2</sup>, Carlos Alexandre Carollo<sup>2</sup>, Fernando de Almeida Borges<sup>2</sup>

## Resumo

A aplicação de acaricidas químicos de forma indiscriminada e inadequada resultou na instalação da resistência nas populações de carrapatos do rebanho bovino brasileiro. A utilização de fitoterápicos no controle de carrapatos é um grande desafio, no entanto com a diversidade de plantas existentes em todo país, implica ser uma alternativa possível. Neste trabalho foi avaliada a atividade acaricida *in vitro* (teste de imersão larval) de extratos de 21 espécies de vegetais encontradas no Pantanal sul-mato-grossense. Os testes foram realizados em três concentrações (40%, 20% e 5%), em triplicata, utilizando um controle positivo (cipermetrina, diclorvós e citronelal) e um negativo (água destilada, etanol 20% e tween 80 5%). A extração do material vegetal foi realizada em extrator de fluido pressurizado, utilizando como solvente etanol e água destilada na proporção de 7:3. Adicionou-se um ml de extrato diluído nos tubos tipo eppendorf contendo cerca de 500 larvas (0,025 gramas de ovos), o tubo foi fechado e agitado manualmente durante alguns segundos e depois a 200 rpm em mesa agitadora durante 10 minutos, o conteúdo foi despejado em envelopes de papel filtro, seco e mantido em 27°C ± 1 e URA de 80%. Após 24 horas

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal/Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS. \*larissamedvet@hotmail.com, <sup>2</sup>UFMS, Brasil.

foram contadas as larvas vivas e mortas. As plantas *Centratherum punctatum*, *Lantana canescens*, *Melanthera latifolia*, *Aeschynomene denticulata*, *Echinodorus paniculatus*, *Caperonia castaneifolia*, *Crotalaria micans*, *Angelonia hirta*, *Diodia kuntzei*, *Sebastiania hispida*, *Richardia grandiflora*, *Aspilia latissima*, *Tocoyena formosa*, *Zanthoxylum rigidum*, *Hyptis mutabilis*, *Ocotea diospyrifolia* e *Sesbania virgata* (extrato de frutos e extrato de ramos finos e folhas), apresentam atividade acaricida sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, com eficácia igual ou superior a 95%. Destes apenas o extrato de *Sebastiania hispida* apresentou esta mesma eficácia na concentração de 5%. *Croton glandulosus*, *Hippocratea volubilis*, *Randia armata* e *Senna obtusifolia*, não apresentam eficácia igual ou superior a 95%. Os extratos brutos de *Melanthera latifolia*, *Angelonia hirta*, *Richardia grandiflora* e *Aspilia latissima*, foram testados em teleóginas pelo teste de imersão de adultos realizado em duplicata (n = 20/concentração). Foi utilizado um grupo controle positivo (cipermetrina, diclorvós e citronelal) e um negativo (água destilada, etanol 20% e tween 80 5%). Apenas *Angelonia hirta* apresentou eficácia próxima a 90% e reduziu a eclodibilidade em 80,7%.

**Palavras-chave:** controle de carrapato, fitoterápico, resistência.

# Atividade acaricida de frações polares e apolares de extratos de 19 plantas do Pantanal sul-mato-grossense

*Larissa Bezerra dos Santos*<sup>1\*</sup>, *Juliana Kátia Souza*<sup>2</sup>, *Barbara Papassoni*<sup>2</sup>, *Dyego Gonçalves Lino Borges*<sup>1</sup>, *Edson dos Anjos dos Santos*<sup>2</sup>, *Carlos Alexandre Carollo*<sup>2</sup>, *Fernando de Almeida Borges*<sup>2</sup>

## Resumo

Durante a avaliação dos extratos vegetais, é possível identificar e quantificar os compostos possivelmente bioativos e analisá-los separadamente. Uma planta pode apresentar mais de um composto bioativo, que podem ter atividade separada ou em associação. Muitas destas substâncias apresentam-se em pequena quantidade na planta e, geralmente apresentam os melhores efeitos biológicos, por isso o estudo que viabiliza a análise de frações ou de substâncias isoladas é de suma importância. A comprovação científica do uso de fitoterápicos é necessária mediante a diversidade de plantas encontradas nos biomas brasileiros. Por isso o objetivo deste trabalho foi determinar a ação acaricida de frações polares e apolares de plantas do Pantanal sul-mato-grossense. Foram avaliadas em teste de imersão larval e caracterizadas as espécies vegetais, *Sesbania virgata* (folha e ramos finos) e (fruto), *Centratherum punctatum*, *Lantana canescens*, *Melanthera latifolia*, *Polygala molluginifolia*, *Aeschynomene denticulata*, *Echinodorus paniculatus*, *Caperonia castaneifolia*, *Crotalaria micans*, *Senna obtusifolia*, *Tocoyena formosa*, *Zanthoxylum rigidum*, *Richardia grandiflora*, *Hyptis*

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal/Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS. \*larissamedvet@hotmail.com, <sup>2</sup>UFMS, Brasil.

*mutabilis*, *Randia armata*, *Hippocratea volubilis*, *Sebastiania hispida*, *Diodia kuntzei* e *Angelonia hirta*, pertencentes ao Banco de extratos de espécies vegetais encontradas no Pantanal-Herbário CG-MS/UFMS. A extração do material vegetal foi realizada em extrator de fluido pressurizado, utilizando como solvente para a fração apolar hexano e acetona (4:1) e, para fração apolar etanol e água destilada (7:3). Os testes foram realizados em três concentrações (40%, 20% e 5%), em triplicata e, utilizando um controle positivo (cipermetrina, diclorvós e citronelal) e um negativo (água destilada, etanol 20% e tween 80 5%). Foram submetidas ao teste de imersão larval com dez concentrações as frações polares (para construção da curva dose x resposta e cálculo da CL50) das plantas *Sesbania virgata* (fruto) (CL50 8,770- IC95% 7,072 – 10,88), *Aeschynomene denticulata*, (CL50 5,946 - IC95% 4,977 – 7,102), *Randia armata* (CL50 17,7- IC95% 8,538 – 36,7) e a fração apolar de *Angelonia hirta* (CL50 8,562 - IC95% 6,454 – 1136). A fração polar de *Randia armata* e as frações apolares de *Richardia grandiflora*, *Hyptis mutabilis* e *Zanthoxylum rigidum* possuem substâncias de atividade acaricida, com eficácia média superior a 95% sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

**Palavras-chave:** composto bioativo, extratos vegetais, *in vitro*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

# Ação acaricida *in vitro* de *Tabebuia* spp. sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Larissa Bezerra dos Santos<sup>1\*</sup>, Juliana Kátia Souza<sup>2</sup>, Barbara Papassoni<sup>2</sup>, Dyego Gonçalves Lino Borges<sup>1</sup>, Lais Souza Carrato<sup>2</sup>, Carlos Alexandre Carollo<sup>2</sup>, Fernando de Almeida Borges<sup>2</sup>

## Resumo

Os objetivos neste trabalho foram avaliar a atividade acaricida *in vitro* de *Tabebuia aurea*, *Tabebuia serratifolia* e *Tabebuia rosea* contra larvas e adultos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, além do fracionamento e caracterização da fração ativa. Foi realizado o teste de imersão larval (TIL) em três diferentes concentrações (70%, 40% e 20%) para *T. aurea* e *T. serratifolia* e 40%, 20% e 5% para *T. rosea*. As três espécies apresentam eficácia média elevada. *T. aurea* apresentou 96,92% de mortalidade de larvas na maior concentração, *T. serratifolia* eficácia média de 90% na menor concentração e 100% na maior concentração e *T. rosea* eficácia média de 99% na maior concentração utilizada. Após definição de atividade acaricida pelo TIL com três concentrações, o extrato concentrado da *T. aurea* e o extrato bruto hidro alcoólico da *T. serratifolia*, foram submetidos ao TIL em concentrações seriadas para obtenção da curva dose x resposta. A espécie avaliada mais profundamente foi *T. serratifolia*, pois foi a que apresentou melhores resultados mesmo em concentrações muito baixas (CL50 7,07%). Com o extrato bruto hidro alcoólico desta planta, foi realizada uma partição, obtendo um extrato hexânico, fracionado em cromatografia em coluna

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal/Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS. \*larissamedvet@hotmail.com, <sup>2</sup>UFMS, Brasil.

clássica, as frações obtidas foram submetidas ao TIL e a fração hexânica foi a que obteve eficácia mais elevada. A partir deste resultado um extrato hexânico bruto da *T. serratifolia* foi obtido por meio de extração direta em extrator de solvente acelerado. Foi realizada uma partição utilizando os solventes de polaridade crescente e estas frações foram testadas por meio do TIL com uma concentração e a fração acetato de etila apresentou média de eficácia de 100%, caracterizando a presença do composto bioativo dentre os compostos apolares da planta. Foram utilizados no teste de imersão de adultos: 1) a extrato bruto de *T. serratifolia*, que resultou em 40% de mortalidade e reduziu a eclodibilidade dos ovos em 90,5%, com eficácia média de 96%; 2) a fração hexânica obtida do extrato bruto de *T. serratifolia* que resultou em 25% de mortalidade, 25,65% de eclodibilidade de ovos e a eficácia média de 82% e, 3) com a fração acetato de etila, obtida de um extrato hexânico bruto de *T. serratifolia* (fração da fração) na concentração de 5%, o resultado foi de 70% de mortalidade, eclodibilidade de 8,45%, sendo a média de eficácia 99%. Os compostos apolares da *T. serratifolia* são os responsáveis pela atividade acaricida da planta.

**Palavras-chave:** cromatografia, compostos apolares, fração ativa.

# Avaliação da imunização contra carrapatos com GAVAC® em bovinos europeus em estábulo no Rio Grande do Sul

*Leandro Quintana Nizoli<sup>1\*</sup>, Iuri Vladimir Pioly Marmitt<sup>2</sup>, Patrícia Biegelmeyer<sup>3</sup>, Carlos O. Cordovés Cespedes<sup>4</sup>, Sergio Silva da Silva<sup>1</sup>*

## Resumo

A vacina GAVAC contra carrapatos tem sido recomendada em vários países para controle integrado de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos. A vacina importada e comercializada no Brasil destina-se ao controle imunológico progressivo das infestações com atuação sobre estirpes de carrapatos resistentes aos carrapaticidas químicos usuais. O estudo experimental objetivou testar a imunoestimulação e o efeito da imunidade da vacina Gavac em bovinos sobre parâmetros fisiológicos dos carrapatos em animais de zona livre submetidos a infestações sucessivas. Foram utilizadas seis novilhas Aberdeen Angus de 12 meses. Quatro animais foram vacinados com Gavac, nos dias 0, 30, 56 e 225, enquanto que dois animais receberam placebo e foram mantidos como controle. Amostras de sangue foram coletadas no dia das vacinações e infestações. Os animais foram desafiados com 6.000 larvas por infestação com o isolado FV-UFPeI-PelotasRS1, livre de hematozoários e quimioresistentes. Após a imunização os animais foram estabulados em baias individuais com assoalho ripado e sistema de coleta diária de

<sup>1</sup>Professor Adjunto – Departamento de Veterinária Preventiva – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, RS

<sup>2</sup>Mestrando de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel

<sup>3</sup>Doutoranda de Pós-Graduação em Zootecnia – UFPel

<sup>4</sup>Consultor do IICA, Porto Alegre, RS. \*leandro.nizoli@gmail.com

carrapatos. Larvas de teleóginas produzidas no grupo controle foram utilizadas para infestações subsequentes do grupo controle, e larvas de teleóginas produzidas no grupo vacinado utilizadas para infestações subsequentes do grupo vacinado até a quarta geração. As teleóginas desprendidas naturalmente foram recolhidas diariamente, contadas, pesadas e incubadas para oviposição para caracterização dos parâmetros fisiológicos. O número de teleóginas por animal nas infestações de desafio foi 23,3% menor no grupo vacinado do que no grupo controle, 391 e 510, respectivamente. O peso das teleóginas foi 9,2% menor no grupo vacinado do que no grupo controle, 257 mg e 283 mg, respectivamente. A massa de ovos das teleóginas foi 12,4% menor no grupo vacinado do que no grupo controle, 113 mg e 129 mg, respectivamente. A eclodibilidade dos ovos foi 26,3% menor no grupo vacinado do que no grupo controle, 70% e 95%, respectivamente. Todos os animais vacinados desenvolveram níveis de anticorpos demonstrados por ensaio imunocromatográfico. A vacinação produziu eficácia de 55,1% no controle das infestações.

**Palavras-chave:** Carrapato, *Rhipicephalus (B.) microplus*, vacina, Bovinos, Gavac.

# Resposta eletrofisiológica de poro-sensilas gustativas das quelíceras de *Rhipicephalus microplus* a compostos fagoestimulantes

Lorena Lopes Ferreira<sup>1</sup>, Lígia Miranda Ferreira Borges<sup>2\*</sup>, Carla Cristina Braz Louly<sup>1</sup>, Sara Fernandes Soares<sup>1</sup>, Thaynara Tatielly Oliveira<sup>1</sup>

## Resumo

*Rhipicephalus microplus*, assim como os demais carrapatos, utiliza seus órgãos sensoriais para a busca de hospedeiros, exploração do ambiente e encontro de parceiros sexuais. Para selecionar o hospedeiro e o sítio de fixação, odor, estímulos gustativos e físicos são fatores decisivos. As poro-sensilas, presentes nas quelíceras de carrapatos, funcionam como sensores gustativos e mecânicos e estão estrategicamente localizados de forma que durante a fixação e alimentação fiquem em contato com os fluidos do hospedeiro. Por isto, estes receptores podem estar associados com a percepção de compostos estimulantes da alimentação ou mesmo antialimentares. Este trabalho teve como objetivo mostrar as respostas eletrofisiológicas das poro-sensilas do carrapato *R. microplus* a fagoestimulantes. Metaninfas de *R. microplus* foram coletadas de bovinos e incubadas (T = 26°C e UR > 80%) para a muda. As fêmeas obtidas foram inoculadas em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) para que realizassem o repasto sanguíneo por três a cinco dias. Utilizando a técnica de eletrofisiologia em sensila única, as poro-sensilas foram estimuladas com cloreto de sódio, cloreto de potássio e glicose

<sup>1</sup>Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil

<sup>2</sup>Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - UFG – e-mail: borges.ligia@gmail.com

nas concentrações de 10-3M, 10-2M e 10-1M e uma mistura de glicose 1M + trifosfato de adenosina 10-2M + glutatona reduzida 10-3M. Uma fêmea foi fixada em uma placa de metal (1 cm Ø). Um eletrodo de vidro foi inserido no ânus até atingir a peça bucal. O eletrodo de registro, conectado a uma probe (Taste Probe, Syntech), contendo as substâncias em teste, foi direcionado até as poro-sensilas, com a ajuda de um micromanipulador (Narishige NMN). A atividade elétrica foi então registrada, amplificada e filtrada (IDAC 4, Syntech) e os dados foram armazenados e analisados pelo programa Autospike® (Syntech). Pelo menos 10 carrapatos foram testados para cada concentração. As frequências e potenciais de ação (spikes) encontradas para os sais aumentaram de acordo com a concentração, atingindo um máximo de 28 spikes/s para o NaCl e 22 spikes/s para o KCl. O número máximo de spikes observado para a glicose foi maior (41 spikes/s) do que para os sais, sendo que ainda neste caso houve atividade de duas células, enquanto os sais ativaram apenas uma célula. Por outro lado o número de spikes observado na mistura (21,25 spikes/s) não foi mais alto do que o observado para os sais, mas mais de uma célula foi ativada. Desta forma, conclui-se que fêmeas de *R. microplus* respondem a compostos fagoestimulantes e estudos futuros são necessários para avaliar a resposta destas mesmas sensilas para potenciais deterrentes de alimentação.

**Palavras-chave:** carrapato do boi, gustação, registro de sensila única, substâncias que estimulam a alimentação.

**Apoio Financeiro:** CNPq.

# ***In vitro* cultivation of tick cells: a practical system for isolation and propagation of pathogens**

Lygia Maria Friche Passos<sup>1,2\*</sup>, E. Zweygarth<sup>1</sup>

## **Resumo**

*In vitro* culture systems of tick cells play an important role in research into vector-borne pathogens, and their advantages are many-fold. More than 50 continuous tick cell lines have been successfully established from several ixodid and argasid tick species and most of them are now available for isolation of pathogens derived from infected humans or animals. The expansion of infected tick cell cultures provides antigenic material which can be produced in reasonably large quantities without the use of *in vivo* species-specific systems. In this paper, taking as examples obligate intracellular bacterial pathogens (e.g. *Anaplasma marginale*, *A. phagocytophilum* and *Ehrlichia* spp.), we describe culture initiation and maintenance, as well as the production of semi-purified live pathogen preparations. Several geographically distinct isolates of *A. marginale* of differing pathogenicity, and more than 40 isolates of *A. phagocytophilum*, derived from cattle, dogs, horses and roe deer have been established and propagated in an *Ixodes scapularis* (IDE8) cell line. In addition, a new ehrlichial agent originally isolated from the haemolymph of Brazilian *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks into

---

<sup>1</sup>Institute for Comparative Tropical Medicine and Parasitology, Ludwig-Maximilians- Universität München, Leopoldstr. 5, D-80802 Munich, Germany

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, INCT-Pecuária, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil \*lygiapassos@yahoo.com.

IDE8 cells, has been propagated also in canine DH82 cells and bovine aorta cells. Re-infection of IDE8 cells with organisms grown in DH82 cells was achieved. Molecular and phylogenetic analyses of four genes indicated that this tick-derived microorganism is a new species, named *Ehrlichia mineirensis* (UFMG-EV). Our results strengthen the potential of this approach for establishment of in vitro propagation systems for tick-borne microorganisms. Thus, this system represents a new tool suitable for the isolation of pathogens and their subsequent propagation, which in turn allows the production of antigenic material for diagnostic tests, antibody and vaccine production, and also for studies on host-vector-pathogen relationships. Last but not least, such systems will contribute to the reduction in usage of animals for experimental research.

**Keywords:** Tick cells, *in vitro* culture, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp.

**Financial Support:** POSTICK ITN (Post-graduate training network for capacity building to control ticks and tick-borne diseases) within the FP7- PEOPLE – ITN programme (EU Grant No. 238511).

# Postick: Post-Graduate Training Network for capacity building to control ticks and tick-borne diseases

---

*Lygia Maria Friche Passos<sup>1,2</sup>*

## Resumo

In the context of global warming and globalisation, ticks and tick-borne diseases (TTBD) are expected to emerge, with an increasing risk for animals and humans. The POSTICK ITN is an strategic post-graduate training programme, coordinated by the Ludwig-Maximilians University (LMU, Munich, Germany), consisting of 7 main research projects (each with 2 sub-projects) and complementary training modules (seminars, workshops, and a conference), combining the facilities and complementary expertise of European institutions (5 universities, 1 research institute and 1 industrial participant) and associated partners (in Brazil and Israel). The POSTICK ITN aims to design new effective control strategies for TTBD diseases through understanding the mechanisms of tick-host-pathogen interactions regarding: (a) pathogen diversity, survival and transmission, modulation of host immune response and tick survival and (b) identification of host-pathogen-tick molecules for designing anti-tick vaccine and blocking pathogen transmission. The main achievements will be presented regarding the Research Training Packages (RTP), which cover the following topics: (a) *In vitro* culture studies

---

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, INCT-Pecuária, Escola de Veterinária-UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. \*lygiapassos@yahoo.com

<sup>2</sup>Comparative Tropical Medicine and Parasitology, Ludwig-Maximilians-Universität, München, Germany

and pathogen polymorphism analyses, (b) Impact of tick infestation on the immunological reaction of the host with a special emphasis to immunomodulation leading to the development of inflammatory reactions including allergic reactions, (c) Genomics and expression profiling of tick-borne pathogens, (d) Dissecting tick cell responses to arboviruses, (e) Functional genomics of tick-host-pathogen interactions and vaccine development, (f) The role of tick molecules in modulation of vector-host interactions, (g) *In vitro* tick screening systems and transmission mechanisms of tick-borne pathogens and Kinetics of tick-borne pathogen transmission. A total of 15 Early Stage Researchers (ESRs) develop individual sub-projects, aiming to tackle a common task.

**Keywords:** Post-graduate training network, Ticks and Tick-borne pathogens, European Commission.

**Financial Support:** POSTICK is an Initial Training Network (ITN) funded through the EU Marie Curie actions within the FP7- PEOPLE – ITN programme (EU Grant No. 238511).

# Histopatologia da possível ação do diflubenzuron no controle de *Rhipicephalus (B.) microplus*

Marcos Valério Garcia<sup>1\*</sup>, Georgia Modé Magalhães<sup>2</sup>, Leandra Marla Oshiro<sup>3</sup>, Francisca de Assis Ardison<sup>2</sup>, Robson Ferreira Cavalcante Almeida<sup>3</sup>, Jacqueline Cavalcante Barros<sup>5</sup>, Renato Andreotti<sup>6</sup>

## Resumo

Os carrapatos são ectoparasitas de grande importância para pecuária bovina brasileira e mundial, causando prejuízos com gastos diretos e como possíveis agentes causadores de doenças. Atualmente a forma de controle mais utilizada são os acaricidas sintéticos, no entanto o uso de forma incorreta ou, até mesmo o uso constante tem acarretado o desenvolvimento de uma pressão de seleção causando um problema que hoje é mundialmente conhecido, a resistência aos princípios químicos. Isso resultou na busca de outras formas de controles, como o imunológico, biológico ou mesmo o uso de acaricida natural, visando uma nova estratégia de controle sem causar danos à população e ao meio ambiente e também acarretando uma redução ou mesmo eliminação de resíduos nos produtos de origem animal. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação de um composto do grupo das benzilfenilureia dentre esses compostos, a molécula diflubenzuron que auxilia no controle de insetos e ácaros, pois atua como inibidores de

<sup>1</sup>Pós-Doutorando, bolsista CNPq; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista FCAV/ UNESP Jaboticabal

<sup>3</sup>Doutorando, DIP/UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>4</sup>Analista, Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

síntese de quitina, conseqüentemente, impedindo o processo de ecdise desses. Para tal foi coletados carrapatos de bovinos previamente tratados com sal contendo diflubenzuron 3% e de bovinos controles com sal mineral. Todos os bovinos de ambos os grupos foram infestados com cinco mil larvas e após o quinto dia, décimo e décimo quinto dia da infestação, amostras dos ácaros foram coletadas e armazenadas em formalina 10% para o emprego da técnica de histopatologia. Lâminas com corte seriados e corados com HE e Giemsa, foram avaliadas visando possíveis modificações ou alterações dignas de nota nas cutículas e tecidos internos dos ácaros em seus estágios. Todo material processado com seus respectivos tempos está sendo analisados criteriosamente. Até o momento, como resultados preliminares, em algumas amostras tratadas foram encontrados mortes celulares.

**Palavras-chave:** Carrapato, sal mineral, histopatológico, controle.

**Agradecimentos:** Embrapa Gado de Corte, Capes, CNPq, Champion.

# Ticks (Acari: ixodidae) associated with environment in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil

---

Marcos Valério Garcia<sup>1</sup>, Dayana Campelo da Silva<sup>2</sup>, Robson Ferreira Cavalcante de Almeida<sup>3</sup>, Rodrigo Casquero Cunha<sup>3</sup>, Jaqueline Matias<sup>3</sup>, Jacqueline Cavalcante Barros<sup>4</sup>, Renato Andreotti<sup>5\*</sup>, Matias Pablo Juan Szabó<sup>6</sup>

## Resumo

We herein report tick species found on wild and domestic animals and environment during one year sampling in the Brazilian Farming Research Company, beef cattle unit (Embrapa Beef Cattle) within the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. From 55 wild hosts from six different species (*Nasua nasua*, *Cebus* spp., *Cerdocyon thous*, *Myrmecophaga tridactyla*, *Tamandua tetradactyla* and *Dasyprocta aguti*) 323 ticks were collected. *Amblyomma ovale* ticks were found solely on coatis and *Amblyomma nodosum* solely on anteaters. Not a single tick was found on capuchin monkeys. On the other way round *Amblyomma cajennense* was found on all parasitized host species. Giant anteater displayed the highest infestation abundance with a mean of 53 ticks/animal. Environment sampling yielded 166 adult *A. cajennense* ticks. Tick species found on domestic animals (*Rhipicephalus microplus*, *R. sanguineus*, *Dermacentor nitens*

---

<sup>1</sup>Pós-Doutorando, bolsista CNPq; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>2</sup>Doutorando, Ciência Animal, UFMS; Lab. de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>3</sup>Doutorando, DIP/UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>4</sup>Analista, Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. \*renato.andreotti@embrapa.br

<sup>6</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, MG

and *A. cajennense*) were those usually found on these hosts in Brazil. The most prevalent tick species, *A. cajennense*, was found on both wild and domestic animals as well as it prevailed in the environment. Thus it is the main vector for pathogens in the Cerrado to bridge wild and domestic animals.

**Keywords:** ticks; wild animals, urban area, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

**Acknowledgements:** Embrapa Gado de Corte, CNPq, Fundect and Ibmama.

# Action of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil in the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: ixodidae)

Renato Andreotti<sup>1</sup>\*, Marcos Valério Garcia<sup>2</sup>, Rodrigo Casquero Cunha<sup>3</sup>, Jacqueline Cavalcante Barros<sup>4</sup>

## Resumo

The *Rhipicephalus microplus* tick is globally regarded as the most economically important ectoparasites of livestock, and the evolution among cattle tick populations of resistance to commercial acaricide is of great concern. The essential oil derived from *Tagetes minuta* may be efficacious against cattle tick infestation, and the results of a cattle pen trial using this essential oil for the control of ticks are reported here. The chemical composition of the essential oil was determined by GC-MS and NMR spectroscopy analyses, which revealed the presence of four main components in the essential oil. These components represent more than 70% of the essential oil: limonene (6.96%),  $\alpha$ -ocimene (5.11%), dihydrotagetone (54.10%) and tagetone (6.73%). The results of the cattle pen trial indicated significant differences among the average values of the biological parameters analyzed, including the number of ticks, the average weight of the ticks, and the average egg weight per engorged female and larval viability. In effect, treatment with *T.*

<sup>1</sup>Animal Health Laboratory. Embrapa Beef Cattle, Avenida Radio Maia, 830 – Zona Rural, Campo Grande, MS. Phone 55 67 3368 21 73, \*renato.andreotti@embrapa.br

<sup>2</sup>Pós-Doutorando, bolsista CNPq; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>3</sup>Doutorando, Ciência Animal da UFMS; Lab. de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

<sup>4</sup>Analista, Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte

*minuta* promoted significant effects on all biological indicators analyzed. Based on the biological indicators, the essential oil showed 99.98% efficacy compared to the control group when used at a 20% concentration. The results obtained in this study suggest that the *T. minuta* essential oil is a potential *R. microplus* tick control agent and may be used to mitigate the economic losses caused by tick infestation.

**Keywords:** cattle tick, *Tagetes minuta*, control, phytotherapeutic, bovines.

**Acknowledgements:** Embrapa Gado de Corte, CNPq, Fundect.

# Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em equinos do estado de Mato Grosso

Marcus Vinícius de Amorim<sup>1</sup>, Andréia Lima Tomé Melo<sup>1</sup>, André Luís Santos de Freitas<sup>2</sup>, Ricardo Pereira Laub<sup>2</sup>, Daniel Moura de Aguiar<sup>1,2</sup>, Rosane Marini Melo<sup>1</sup>, Jonas Moraes-Filho<sup>3</sup>, Alvair da Silva Alves<sup>1</sup>, Marcelo Bahia Labruna<sup>3</sup>, Richard de Campos Pacheco<sup>1,2\*</sup>

## Resumo

*Rickettsia* são bactérias intracelulares obrigatórias, pertencente à família Rickettsiaceae e ordem Rickettsiales. Espécies deste gênero estão divididas em dois grupos: i-grupo Tifo (GT), com a *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*; ii-grupo da Febre Maculosa (GFM). No entanto há espécies de riquetsias, como *Rickettsia canadensis* e *Rickettsia bellii*, que não estão inseridas em nenhum deles. No GFM, há mais de 20 espécies válidas, como *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia rhipicephali* e *Rickettsia amblyommii* já descritas no Brasil, assim como a *R. bellii*. Os equinos assumem um importante papel de sentinela da Febre Maculosa Brasileira (FMB), causada por *R. rickettsii*, em áreas onde o carrapato vetor é o *A. cajennense*, por serem considerados hospedeiros primários dessa espécie de carrapato. Buscou-se avaliar a exposição de equinos no Estado de Mato Grosso à *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. amblyommii*, *R. rhipicephali* e *R. bellii* com a pesquisa de anticorpos pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Com base no mapa

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGVET) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT

<sup>2</sup>Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEVZ) da UFMT, Cuiabá, MT

<sup>3</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP. \*richard@ufmt.br

das unidades de atendimento do Instituto de Defesa Agropecuária do Estado de Mato Grosso (INDEA-MT), foram avaliadas 460 amostras de soro, calculadas de acordo com a população equina das 12 regionais do INDEA-MT. No total, 273 (59,34%) amostras foram positivas (títulos  $\geq 64$ ) para pelo menos um antígeno testado. Quando um título obtido para uma determinada espécie de riquetsia foi pelo menos quatro vezes maior do que o título mais alto obtido para as demais espécies, pode-se sugerir que os anticorpos foram homólogos à primeira espécie, sendo considerado o provável antígeno responsável pela infecção (PARI). Assim, determinou-se como PARI: 131 (47,9%) amostras para *R. amblyommii*, 13 para *R. bellii* (4,76%), 6 para *R. rickettsii* (2,19%) e 5 para *R. rhipicephali* (1,83%). Observou-se alto percentual (59,34%) de animais sororreagentes à *Rickettsia* spp., assim como alta prevalência de anticorpos para *R. amblyommii*. A comprovação da circulação de *R. amblyommii* já havia sido confirmada no município de Poconé, MT, infectando cães, no entanto, mostrou-se ampla distribuição dessa bactéria por todo Estado. A espécie *R. amblyommii* tem sido detectada em carrapatos e, sorologicamente associada a possíveis casos de riquetsioses. Para *R. rhipicephali* e *R. bellii* não há comprovação da patogenicidade para humanos e animais. Apesar da observação de animais apresentando títulos de anticorpos homólogos à *R. rickettsii*, e esta espécie apresentar alta letalidade aos seres humanos, esses dados devem ser observados com cautela, pois não há confirmação de casos de FMB no Estado.

**Palavras-chave:** Equinos, Reação de imunofluorescência indireta, *Rickettsia amblyommii*, Mato Grosso.

**Apoio Financeiro:** CNPq e Fapemat.

# Identificação das infestações por carrapatos em cavalos mangalarga marchador no sul de Minas Gerais

Marina Helena Figueredo Rosa<sup>1\*</sup>, Isabella Santos Barbosa<sup>2</sup>, Marcelle Bianca Félix<sup>2</sup>, Luiz Augusto Capellari Leite da Silva<sup>2</sup>, Izabela de Assis Rocha<sup>2</sup>, Adriana Mello Garcia<sup>3</sup>, Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha<sup>4\*</sup>

## Resumo

Carrapatos da família IXODIDAE são os mais importantes ectoparasitas de equinos. Acarretam prejuízos econômicos pela irritação, espoliação sanguínea, bem como pela transmissão de doenças que podem acarretar até mesmo a morte dos animais. Além disso, algumas espécies são importantes como transmissoras de rickettsioses de caráter zoonótico, como a febre maculosa transmitida pelo *Amblyomma cajennense*. Com o objetivo de diagnosticar a ocorrência das espécies de carrapatos em equinos foram visitados, até o presente momento, 18 haras que criam animais da raça Mangalarga Marchador (MM). Foi realizada contagem de carrapatos de um lado do corpo do animal e o valor multiplicado por dois, utilizando, em média, 10 animais por propriedade. Adultos foram coletados para identificação segundo a chave para os gêneros de Ixodidae na região neotropical, adaptada de Guimarães et al.(2001) por Barros-Battesti et al.(2006). A espécie mais frequente e mais abundante nas propriedades foi *Anocentor nitens* (78%). Não foram observados

<sup>1</sup>Mestranda em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Lavras/UFLA – Lavras, MG. \*mhfrosa@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Graduanda (o) em Medicina Veterinária pela UFLA

<sup>3</sup>Professora Adjunta Parasitologia Veterinária – DMV/UFLA – Co-orientadora

<sup>4</sup>Professora Adjunta Epidemiologia Veterinária – DMV/UFLA – Orientadora/Coordenadora do Projeto. rochac@dmv.ufla.br

carrapatos em 17% dos plantéis. A infestação em conjunto por *A. cajennense*, *A. nitens* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* foi observada em 34% das propriedades e em 39% foram observadas somente as espécies *A. cajennense* e *A. nitens*. Das tropas em que foi encontrada apenas uma espécie de ixodídeo, 5% apresentaram infestação apenas por *A. nitens* e 5% apenas por *A. cajennense*. A maior parte das infestações observadas ocorreu pela forma larval e ou ninfa do parasita. A fase adulta esteve presente em todas as propriedades em que se detectou infestação, porém em baixa intensidade. As regiões anatômicas mais afetadas foram cabeça, orelha, pescoço, tórax e região perianal. A infestação por carrapatos é um problema frequente nos haras com criação de MM avaliados. A alta prevalência de adultos de *A. nitens* e dos estágios larvais da família Ixodidae observados nos plantéis podem ser justificados pela época do ano em que se efetuaram as coletas. A pesquisa irá compreender outras épocas do ano para verificar e confirmar a prevalência e o efeito da sazonalidade na dinâmica populacional dos carrapatos.

**Palavras-chave:** *Amblyomma cajennense*, *Anocentor nitens*, Equino, Ixodidae, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

**Apoio Financeiro:** CNPq.

# ***Amblyomma cajennense*: percepção dos criadores de Mangalarga Marchador do sul de Minas Gerais**

*Marina Helena Figueredo Rosa<sup>1\*</sup>, Débora Oliveira Daher<sup>2</sup>, Imara Gonçalves Lima<sup>3</sup>, Daniel Arrais Biihrer<sup>3</sup>, Augusto Borges Veloso<sup>3</sup>, Adriana Mello Garcia<sup>4</sup>, Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha<sup>5\*</sup>*

## **Resumo**

A fim de caracterizar a percepção e o conhecimento de criadores de equinos sobre a biologia e controle dos ectoparasitos mais frequentes nos animais, foram visitados 29 haras da região do Sul de Minas Gerais, no período de abril a janeiro de 2013, onde foram aplicados questionários semiestruturados que forneceram informações sobre a percepção do criador em relação ao manejo, biologia e controle dos ectoparasitos. Os dados foram tabulados no Epidata e analisados no *software* PASW 18.0. Foram realizadas as análises descritivas de todas as variáveis. Foi observada por 51,7% dos criadores a ocorrência de carrapatos mais concentrada na época da seca, sendo que 44,8% identificaram a presença de menos de 10 teleóginas em cada animal na época de maior infestação. Os criadores observaram que os locais de preferência para o parasitismo são: orelhas (62,1%), cauda (51,7%), pescoço (31%), axilas (34,5%) e acreditam que os carrapatos os preferem por serem mais protegidos (22,2%) e serem regiões mais

<sup>1</sup>Mestranda em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Lavras/UFLA – Lavras, MG. \*mhfrosa@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Medicina Veterinária pela UFLA (2008) e M Sc. Vínculo: Bolsista DTI-II/CNPq

<sup>3</sup>Graduanda(o) em Medicina Veterinária pela UFLA

<sup>4</sup>Professora Adjunta Parasitologia Veterinária – DMV/UFLA – Co-orientadora

<sup>5</sup>Professora Adjunta Epidemiologia Veterinária – DMV/UFLA – Orientadora/Coordenadora do Projeto. rochac@dmv.ufla.br.

quentes (18,5%). Observa-se com frequência (89,7%) a presença de carrapatos em outros animais, principalmente em bovinos, e desses, mais de um terço dos criadores (36%) acham que é a mesma espécie do "carrapato do cavalo". Quanto à biologia da espécie *Amblyomma cajennense*, a duração do ciclo de vida citada pelos criadores apresentou uma mediana de 24 dias, a vida parasitária de 18 dias e postura de 3.000 ovos por fêmea. As bases químicas mais utilizadas foram: deltametrina (18,3%), cipermetrina + clorpirifós (14,2%) e fipronil (14,2%). Dos criadores, metade aplica o carrapaticida em intervalos entre 15 e 30 dias e a outra metade, entre 40 e 90 dias. Sobre o conhecimento do controle estratégico de carrapatos 42,9% relataram conhecer. Quando questionados sobre a perda de eficiência dos carrapaticidas, 72,4% já ouviram sobre a ocorrência, e o motivo mais citado para isso foi a resistência do carrapato ao produto carrapaticida. A grande maioria (92,9%) garantiu usar um produto carrapaticida especial para orelhas dos equinos. Em relação à utilização de equipamento de proteção individual (EPI), 66,7% afirmam que não utilizam nenhum método de proteção, e 34% afirmaram utilizar apenas um tipo de equipamento durante a aplicação do produto (principalmente luva ou máscara). A partir desses dados parciais, pode-se perceber que os criadores apresentam pouco conhecimento técnico sobre o controle do carrapato, não distinguindo entre as espécies *A. cajennense* e o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. E também apresentam dificuldades em compreender sobre os cuidados a serem tomados na biossegurança.

**Palavras-chave:** carrapato, entrevistas, equinos.

**Apoio Financeiro:** CNPq.

# Recent advances and perspectives on immunological control of ticks – the cuban experience

*A. Rodriguez, M. Suarez<sup>1</sup>, C. Borroto<sup>1</sup>, M. P. Estrada<sup>1\*</sup>*

## Resumo

Ticks are blood-sucking ectoparasites that are vectors of infectious agents causing human and animal diseases. They are also cause of great economic losses in the agricultural field. The use of chemical pesticides is the main tool to control ticks. However, the intensive use of these products causes food contamination, environmental pollution and development of resistance by ectoparasites. Current strategies to control ticks are based on the use of integrated control programs (ICP) including an immunogen. This kind of integrated program presents the advantages that are potentially applicable to all genotypes of chemical resistant ticks, are relatively cheap, friendlier with the environment, stable and secure. A Cuban vaccine, Gavac, using Bm86 protein as immunogen, had been used in the last 18 years as ICP in Cuba, Colombia, Brazil, Mexico, and more recently in Venezuela. In all cases Gavac showed effectiveness to control ticks and to reduce the chemical use. The efficacy of this kind of program using immunological control as a tool is linked to a good production practice, technical specialized support and regional policy. In the sense to find new antigens with high efficacy, several groups over the world dedicate their efforts. In order to impro-

---

<sup>1</sup>Animal Biotechnology Division. Center for Genetic Engineering and Biotechnology. P.O. Box 6162, Habana 10600, Cuba. \*mario.pablo@cigb.edu.cu

ve the short term effect of GAVAC, our laboratory had designed and evaluated a peptide of the tick ribosomal protein PO as an immunogen candidate. The use of the protein PO for the control of tick infestations is limited by the high degree of amino acid identity to the antigen existing between ticks and mammals. An immunogenic region of the tick ribosomal protein PO of the *Rhipicephalus* genus was identified as none conserved compared with the host ortholog protein of the host and other mammals including humans. A peptide of 20 amino acids within region showed a high efficacy as a vaccine against infestations of *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks in immunization and challenge experiments in rabbits and cattle. In both experiments, a marked decrease in the tick viability was observed, with more than 90% of efficacy, suggesting the promising possibilities of this peptide for effective control of ticks. This finding could help to improve the efficiency and productivity of the livestock industry and reduce the use of chemicals in agriculture.

**Keywords:** Tick control, vaccination, PO protein, Gavac, Bm86.

# Ticks as bioindicators the presence of *Trypanosoma* spp. in Campo Grande city, MS, Brazil

Marlon Cezar Cominetti<sup>1\*</sup>, Robson Ferreira Cavalcante de Almeida<sup>1</sup>, Barbara Guimarães Csordas<sup>2</sup>, Renato Andreotti<sup>3</sup>

## Resumo

*Rhipicephalus sanguineus* is a tick belonging to the suborder Ixodida, family Ixodidae, subfamily Rhipicephalinae. The genus *Rhipicephalus*, of African origin, comprises 82 species recognized in the world and probably introduced to the Americas with colonization. Currently, occurs throughout the Neotropics predominantly in urban areas and affects approximately 30% of dogs. *R. sanguineus* has preferred host as the domestic dog and wild canids, having a wide distribution throughout the Brazilian territory and can make hematophagy in other mammals as well as birds and reptiles. The present study aimed to provide preliminary data checking for the presence of *Trypanosoma* spp. in *R. sanguineus* collected from dogs in the city of Campo Grande, MS, Brazil. 148 dogs were examined and collected 1992 *R. sanguineus*. From these, 444 specimens (three per animal) were subjected to DNA extraction. To date, 63 specimens were examined for the presence of *Trypanosoma* spp. by Polymerase Chain Reaction (PCR) using the primer TRYP1R/TRYP1S. The remainder of the ticks collected was deposited in the mu-

<sup>1</sup>Doutorando, DIP/UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte.  
\*mccominetti@gmail.com

<sup>2</sup>Mestranda, Curso de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP), UFMS; Laboratório de Sanidade Animal, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

<sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

seum of the tick Embrapa Beef Cattle, Campo Grande, MS, Brazil. Of the 63 samples examined, 22 (35%) were positive for trypanosomes, being seven to *Trypanosoma evansi* and 15 to *Trypanosoma vivax*. The gathering of *Trypanosoma* spp. in *R. sanguineus* can contribute to the study of the distribution of these parasites in the environment. For being of wide distribution and tough to variations in the medium, ticks may be used in epidemiological studies in regarding the indication of the presence of trypanosomes and therefore serving as bio indicators of these parasites. Data shows that the city of Campo Grande is an area subject to transmission of *T. evansi* and *T. vivax*, causing damage to livestock, a major source of state income. Although *R. sanguineus* is not directly related to the transmission of trypanosomes, only the presence of parasites in ticks may indicate an area of occurrence as well as maintenance of source trypanosomiasis caused by *Trypanosoma* spp. While not demonstrably transmitters found trypanosomiasis, ticks can be used as a source of monitoring of these enabling strategic planning more effective in combating the diseases caused by these parasites.

**Keywords:** PCR, epidemiology, *Rhipicephalus sanguineus*.

**Partnerships/Financial Support:** Fundect, Capes, CNPq, Embrapa, UFMS.

# Ocorrência de *Amblyomma aureolatum* e *Haemaphysalis juxtakochi* em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) no Paraná, Brasil

Meire Christina Seki<sup>1\*</sup>, Marcos Vinicius Tranquilim<sup>1</sup>, Maria Marlene Martins<sup>2</sup>, Matias Pablo Juan Szabó<sup>2</sup>, Marcos Valério Garcia<sup>3</sup>, Renato Andreotti<sup>3</sup>, Adriano de Oliveira Torres Carrasco<sup>1</sup>

## Resumo

No presente trabalho teve-se como objetivo relatar a ocorrência dos carrapatos *Amblyomma aureolatum* e *Haemaphysalis juxtakochi* em um cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), atropelado e atendido pelo Serviço de Atendimento a Animais Selvagens (SAAS), do departamento de Medicina Veterinária (DEVET) da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO) Paraná. Foram encontrados oito espécimes de carrapatos no pelame do animal e estes coletados e encaminhados ao Museu do Carrapato, na Embrapa Gado de Corte, MS, Brasil. Foram identificados seis exemplares no estágio adulto de *A. aureolatum* (uma fêmea e cinco machos) e dois exemplares no estágio adulto de *H. juxtakochi* (uma fêmea e um macho). O carrapato *A. aureolatum* encontra-se amplamente distribuído no Brasil, sendo a espécie de carrapato mais frequente nos cães domésticos no estado do Paraná, principalmente em periferias e áreas rurais, e o carrapato com maior prevalência em *Cerdocyon thous* na região sul do Rio Grande do Sul. Já o carrapato *H. juxtakochi* foi descrito parasitando, preferencialmente mamíferos da família Cervidae, bem

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Guarapuava, PR, Brasil. <sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, MG. <sup>3</sup>Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. \*meireseki@hotmail.com.

como outras espécies como cão doméstico, bovino, suíno, roedores, anta, quati, aves e inclusive o homem. No Brasil, a ocorrência do carrapato *H. juxtakochi* abrange os estados de Pernambuco, Rondônia, Mato Grosso, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul; e em países da América do Sul, como Panamá, Venezuela e Argentina. A ocorrência de *A. aureolatum* e *H. juxtakochi* no Sul do Brasil merece atenção, já que foram isoladas bactérias do gênero *Rickettsia*, potencialmente transmissoras de doenças ao homem através da picada de carrapatos contaminados. Esses resultados demonstram a importância da fauna silvestre na disseminação e adaptação dos carrapatos a diversos tipos de ambientes e hospedeiros. Este é o primeiro registro de *A. aureolatum* e *H. juxtakochi* em *C. thous* na região Centro-Oeste do Paraná, Brasil. A presente notificação contribui, portanto, para o conhecimento da distribuição geográfica das espécies acima citadas.

**Palavras-chave:** carrapato, Centro-Oeste, Irati, coinfeção, animal selvagem.

**Parcerias:** SAAS, IAP.

# Aquisição de resistência em cães domésticos a *Rhipicephalus sanguineus*, Brasil e Argentina, após infestações sucessivas

Patricia Martinez Évora<sup>1\*</sup>, Gervásio Henrique Bechara<sup>1</sup>, Rosângela Zacarias Machado<sup>1</sup>, Gustavo Seron Sanches<sup>2</sup>, Márcia Mariza Gomes Jusi<sup>1</sup>, Vivian Boter Bergamasco<sup>1</sup>

## Resumo

Resultados no Brasil demonstraram, ao contrário de laboratórios dos EUA e Japão, que o cão doméstico não desenvolve resistência aparente ao carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. Ainda, que populações de *R. sanguineus* do Brasil e da Argentina apresentam diferenças biológicas, morfológicas e genéticas marcantes sendo a primeira mais próxima filogeneticamente do *R. turanicus* da África e a segunda mais relacionada ao *R. sanguineus* da Europa, o que explicaria, pelo menos em parte, as diferenças acima relatadas. O objetivo deste estudo foi investigar, de forma comparativa, possível aquisição de resistência em cães domésticos após três infestações sucessivas por carrapatos adultos *R. sanguineus*, linhagens Jaboticabal, Brasil e Rafaela, Argentina. Os ácaros foram mantidos em estufa para B.O.D. (modelo CD347, FANEM) à temperatura de 27°C, umidade de 80% e fotoperíodo de 12 horas. Cães domésticos, da raça Dachshund, machos e fêmeas, de três meses a um ano de idade, sem contato prévio com carrapatos, foram utilizados como hospedeiros. Os cães (n = 10) foram distribuídos em dois grupos experimentais compostos de cinco animais cada,

<sup>1</sup>Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil, \*patievora@hotmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Brasil

sendo o primeiro grupo (G1) infestado com *R. sanguineus* linhagem Jaboticabal, e o segundo (G2) infestado com *R. sanguineus* linhagem Rafaela. Foram avaliados parâmetros biológicos dos carrapatos, histopatologia de sua lesão de fixação na primeira e terceira infestações e a titulação de anticorpos séricos dos cães pelo teste ELISA. Resultados dos parâmetros biológicos demonstraram que cães não adquirem imunidade a ambas as linhagens do carrapato *R. sanguineus* após infestações sucessivas. Biópsias do sítio de fixação dos carrapatos revelaram infiltrado inflamatório com predominância de células mononucleares 24 horas pós-liberação dos carrapatos e predominantemente neutrofílico em todas as infestações na 48a, 72a e 144a horas pós-liberação. Comparações entre uma linhagem e outra não demonstraram diferenças significativas. O teste ELISA revelou baixa produção de anticorpos séricos no grupo 2, em infestações sucessivas, e maior produção pós-segunda e terceira infestações no grupo 1. Também demonstrou reação cruzada entre os soros dos cães infestados com *R. sanguineus*, linhagem Jaboticabal e o antígeno de *R. sanguineus*, linhagem Rafaela, e vice-versa. Conclui-se que não há diferença significativa entre aquisição de resistência pelo cão doméstico ao carrapato *R. sanguineus*, linhagens Jaboticabal e Rafaela.

**Palavras-chave:** Cão doméstico, Histopatologia, Imunidade, Infestação, *Rhipicephalus sanguineus*.

**Órgão de Financiamento:** CNPq, Fapesp.

# Avaliação do ganho de peso de novilhos submetidos a protocolos quimioprofiláticos contra Tristeza Parasitária Bovina

*Sergio Silva da Silva<sup>1\*</sup>, Iuri Vladimir Pioly Marmitt<sup>2</sup>, Patrícia Biegelmeyer<sup>3</sup>, Leandro Quintana Nizoli<sup>1</sup>*

## Resumo

A Tristeza Parasitária Bovina (TPB) é uma doença parasitária e infecciosa causada pelos protozoários *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e a riquetsia *Anaplasma marginale*, transmitidos aos bovinos pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Uma vez infectado, o bovino pode contrair a doença clínica, prejudicando seu desenvolvimento, com risco de morte. Após recuperação da fase clínica da doença, os bovinos podem assumir o quadro de portador. Novas infestações podem causar doença ou não, dependendo da capacidade imune dos animais, podendo provocar casos clínicos brandos ou subclínicos, que apesar de não despertar visualmente a necessidade de tratamento, acarretam quedas de desempenho zootécnico. Quando tratados com medicamentos específicos, os casos subclínicos retornam ao seu desempenho normal. Este trabalho objetivou avaliar o desempenho do ganho de peso de bovinos de ciclo precoce, com histórico de casos de TPB, submetidos a diferentes tratamentos quimioprofiláticos para TPB na região sul do Rio Grande do Sul. Foram utilizados 298 animais da raça Aberdeen Angus,

<sup>1</sup>Professor Adjunto – Departamento de Veterinária Preventiva – Faculdade de Veterinária – Universidade Federal de Pelotas – UFPel

<sup>2</sup>Mestrando Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel

<sup>3</sup>Doutoranda Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFPel. \*silva.sergios10@gmail.com

expostos a infestação natural por carrapatos, remanescentes de surto de TPB. Os animais apresentavam histórico de pesagem individual e no dia -1 foram selecionados os grupos de acordo com o ganho de peso do dia -35 ao -1. O lote tinha peso médio de 225,11 kg ( $\pm 36,19$ ) e o ganho médio diário de peso (GMD) no período foi de 0,662Kg. Foram divididos em três grupos: G1 – 68 animais com GMD abaixo da média (0,285 kg/dia); G2 – 65 animais com GMD abaixo da média (0,269 kg/dia); G3 – 36 animais com GMD acima da média (1,481 kg/dia). Os animais do G1 foram tratados profilaticamente com 1,17 mg.Kg-1 de diaceturato de diminazeno e 6,7 mg.kg-1 de oxitetraciclina. No G2 foram tratados com 1,2 mg.kg-1 de dipropionato de imidocarb, e os animais do G3 não foram medicados. Após 35 dias, foram realizadas novas pesagens e o G1 obteve o melhor GMD (0,615 kg/dia) e não apresentou animais com casos clínicos. O G2 obteve desempenho superior ao G3 (controle) com 0,488 kg/dia e 0,280 kg/dia, respectivamente. Ocorreram três quadros clínicos de anaplasmose, dois casos no G2 e um caso no G3, indicando que houve transmissão da doença no período, e que o período de proteção para anaplasmose do protocolo profilático do G2 foi inferior ao período do experimento. Podemos concluir que a aplicação de medicamentos profiláticos para TPB, além de manter o rebanho protegido de quadros clínicos, é uma importante ferramenta na manutenção do GMD em bovinos de ciclo precoce, sem adquirir proteção e imunidade à custa de desempenho.

**Palavras-chave:** *Anaplasma marginale*, *Babesia* spp., ganho de peso, bovinos, quimioprofilaxia.

# Detecção molecular de *Anaplasma platys* em carrapatos do Chile

Rute Witter<sup>1</sup>, Andréia Lima Tomé Melo<sup>2</sup>, Alvaír da Silva Alves<sup>2</sup>, Daniel Moura de Aguiar<sup>1,2</sup>, Daniel Gonzales-Acuña<sup>3</sup>, Sebastián Muñoz-Leal<sup>3</sup>, Richard de Campos Pacheco<sup>1,2\*</sup>

## Resumo

As riquetsioses são enfermidades infecciosas transmitidas por artrópodes, causadas por bactérias gram-negativas, parasitas intracelulares obrigatórias associadas à transmissão por carrapatos. Na ordem *Rickettsiales*, as famílias Anaplasmataceae e Rickettsiaceae agrupam importantes patógenos, no qual estão os gêneros *Anaplasma*, *Ehrlichia* e *Rickettsia* que apresentam importantes espécies patogênicas à saúde humana e animal. Os carrapatos (Acari: Ixodidae) são incriminados como principais vetores desses agentes. O estudo objetivou detectar em carrapatos coletados em cães do Chile (Parque Nacional Pan de Azúcar; La Serena, Elqui; Caleta Hornos; Puento Alto, Santiago; Illapel, Choapa; Chañaral, Chañaral; Chillán, Ñuble; Freirina, Huasco), durante o período de 2010 e 2011, a presença de DNA de *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp. e *Ehrlichia* spp. pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Um total de 64 carrapatos, sendo 61 da espécie *Rhipicephalus sanguineus* (13 machos; 43 fêmeas; 5 ninfas) e três de *Amblyomma tigrinum* (3 fêmeas) foram submetidos à extração de DNA. Posteriormente, as amostras de DNA foram processadas pela PCR para ampli-

<sup>1</sup>Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEVZ) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGVET) da UFMT, Cuiabá, MT

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Concepción, Chile. \*richard@ufmt.br

ficação de um fragmento de 458, 409 e 401 pares de bases (pb) dos genes 16S RNA ribossomal (16S rRNA), dissulfide bond (dsb) e citrato sintase (gltA) para *Anaplasmataceae*, *Ehrlichia* spp. e *Rickettsia* spp., respectivamente. Em seguida, amostras positivas de *Anaplasmataceae* foram testadas para uma segunda reação de PCR (nested PCR - nPCR) específica para a espécie *A. platys* buscando amplificar um fragmento de 364 pb do gene 16S rRNA. Do total, uma (1,56%) fêmea de *R. sanguineus* foi positiva para *A. platys*. Apesar da detecção molecular de *Ehrlichia canis* em amostras de sangue de cães, assim como de *Candidatus 'Rickettsia andeanae'* em *A. triste* e *R. felis* em *R. sanguineus* terem sido descritas no Chile, nenhuma amostra de DNA foi positiva para os gêneros *Ehrlichia* e/ou *Rickettsia*. No entanto, este é o primeiro relato de *A. platys* em *R. sanguineus* no Chile. Como já foi identificada a presença de DNA de *A. platys* em amostras de sangue de seis cães de Santiago pela PCR, é possível deduzir a participação desta espécie de carrapato na transmissão do *A. platys* no país.

**Palavras-chave:** Carrapatos, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, *Anaplasma platys*, Chile.

**Apoio Financeiro:** CNPq e Fapemat.

# Detecção molecular de *Ehrlichia mineirensis* em bovinos do estado de Mato Grosso

Thaysa F. Ziliani<sup>1</sup>, Alvair S. Alves<sup>1</sup>, Jaqueline B. Azevedo<sup>1</sup>, Andréia L.T. Melo<sup>1</sup>, Hebert S. Soares<sup>2</sup>, Cássia A. Mello<sup>1</sup>, Marcelo B. Labruna<sup>2</sup>, Richard C. Pacheco<sup>1</sup>, Daniel M. Aguiar<sup>1\*</sup>

## Resumo

Recentemente novas espécies do gênero *Ehrlichia* foram identificadas no continente americano, como a *Ehrlichia* sp. BC em bovinos no Canadá e *Ehrlichia mineirensis* em carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Brasil. O presente estudo objetivou identificar a presença de *Ehrlichia* sp. em bovinos, equinos e ovinos do estado de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Entre dezembro de 2011 e janeiro de 2013, amostras de sangue de 156 bovinos, 51 equinos e 19 ovinos, todos de idade, sexo e raças variadas, procedentes dos municípios de Barão de Melgaço, Cáceres, Chapada dos Guimarães, Corumbá, Lambari do Oeste, Nossa Senhora do Livramento, Poconé e Santo Antônio do Leverger foram testados por reação de heminested PCR com intuito de amplificar um fragmento do gene dsb de bactérias do gênero *Ehrlichia*. Foi realizado sequenciamento de nucleotídeos das amostras positivas para identificação da espécie envolvida na infecção. Como controle positivo das reações utilizou-se DNA proveniente de cultivo celular da cepa São Paulo de *E. canis*. Amostras de sangue total de cinco bovinos procedentes de Poconé e Santo Antônio do Leverger foram tratadas para o

<sup>1</sup>Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso. \*danmoura@ufmt.br

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

isolamento de leucócitos e inoculadas em cultivo de células DH82 e Hela para tentativa de isolamento "in vitro". Não foram identificados equinos e ovinos positivos. Dos bovinos testados 15,1% (27/156) foram positivos na PCR para *Ehrlichia*. Quando analisados por município, em Poconé foi observado ocorrência de 38,1% (21/55), em Santo Antônio do Leverger foram 11,7% (4/34), em Cáceres e Nossa Senhora do Livramento 10% (1/10) cada. Uma das amostras de sangue inoculada em células DH82 apresentou estruturas compatíveis com mórulas de *Ehrlichia* no 15º dia pós-inoculação, sendo positiva na PCR no mesmo momento. Após 30 dias pós-inoculação o isolamento resultou negativo. O sequenciamento de três produtos amplificados de Poconé, Santo Antônio do Leverger e Nossa Senhora do Livramento geraram sequências 99% (307/308-bp) idênticas a *E. mineirensis* cepa UFMG, uma espécie recentemente descrita a partir de carrapatos *R. (B.) microplus* de Minas Gerais; no entanto, a única substituição de nucleotídeo encontrada entre a sequência da cepa UFMG e as do presente trabalho não resultaram em alteração na sequência de aminoácidos. Este estudo relata *E. mineirensis* infectando vertebrados pela primeira vez.

**Palavras-chave:** Erliquiose, bovinos, PCR, ocorrência, Brasil.

**Apoio Financeiro:** Fapemat, CNPQ.

**Embrapa**

---

*Gado de Corte*

CGPE 10732



Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento

