



A BIOLOGIA MOLECULAR COMO ALIADA NO COMBATE AOS CARRAPATOS

MARIO LUIZ MARTINEZ¹; MARCOS VINICIUS G. B. DA SILVA¹; MARCO ANTÔNIO MACHADO¹; ROBERTO LUIZ TEODORO¹; RUI DA SILVA VERNEQUE¹

¹ Pesquisador Embrapa Gado de Leite
Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco, 36038-330 - Juiz de Fora
martinez@cnppl.embrapa.br

Cerca de um bilhão de bovinos, a maioria localizada nos trópicos, podem ter seu desempenho afetado por várias espécies de carrapatos ou pelas doenças transmitidas por eles, as quais podem causar perdas significativas nos sistemas de produção (Pergran et al., 1991). Nessas regiões, as infestações por esses parasitas têm provocado, além da redução na produtividade, até mesmo a morte dos animais mais susceptíveis. Na grande maioria dos países da América Latina, localizados nas regiões tropicais, a principal espécie de carrapato que ataca os bovinos é a *Boophilus microplus*.

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com cerca de 170 milhões de cabeças, sendo 140 milhões exploradas para a produção de carne e 30 milhões para a produção de leite. A atividade agropecuária representa cerca de 43% do PIB agropecuário do Brasil, o que mostra a grande relevância econômica e social para o País. As perdas provocadas pelos ectoparasitos provocam reduções drásticas nas produções de carne e de leite. O País deixa de produzir 26 milhões de arrobas de carne/ano e 4 bilhões de litros de leite/ano, refletindo em prejuízos da ordem de R\$ 2,24 bilhões. Além disso, a infestação por carrapatos e bernes contribui significativamente para a perda da qualidade do couro, sendo que apenas 8% do couro produzido é comercializado como de primeira qualidade. Além dessas perdas, estima-se que o gasto anual com os produtos químicos para o combate aos parasitas seja da ordem de R\$ 800 milhões.

Segundo Homer e Gomes (1990), um bovino infestado com carrapatos e parasitado por vermes, se não for tratado, pode sofrer perdas de 18 a 47 kg de peso/ano. Na Austrália, Frisch et al. (2000) estimaram que a perda média de peso por ano, de um animal de 12 a 18 meses de idade e com carga parasitária de 40 carrapatos/dia, seria equivalente a 20 kg. Segundo esses autores, um animal pode morrer se permanecer infestado com mais de 200 carrapatos por um período de seis semanas. O efeito de infestação de carrapatos sobre a diminuição da produção de leite é também reportado na literatura. Furlong et al. (1996) verificaram, em fêmeas mestiças holandês-zebu, que a redução de produção de leite por vaca foi de 23%, quando essas estavam com uma média de 105 carrapatos/vaca. Semelhantemente, Teodoro et al. (1998) estimaram perda de 26% (529 kg) na produção de leite por lactação quando compararam dois grupos de vacas holandesas puras por cruza, banhadas e não-banhadas com carrapaticida. Na Austrália, vacas holandesas de alta produção em sistema confinado foram submetidas a cargas crescentes de carrapatos por um período total de 105 dias. Na última semana desse período, os animais estavam produzindo 2,86 litros de leite por dia e pesando 10,6 kg menos do que as vacas que não foram infestadas (Jonsson et al., 1998).

Assim, é bastante compreensível a procura por meios que possam, se não eliminar totalmente essas perdas, pelo menos diminuí-las significativamente. Considerando-se os conhecimentos atualmente disponíveis, podemos dizer que existem basicamente três meios de controlar os carrapatos, a saber:

- a) Utilização de acaricidas;
- b) Utilização de vacinas e
- c) Utilização de animais resistentes.

a) Acaricidas

O controle dos carrapatos, no Brasil, é baseado principalmente no uso de acaricidas e, em menor grau, no uso de raças resistentes aos carrapatos. O uso contínuo dos acaricidas tem provocado o aparecimento de carrapatos resistentes, e, assim, a cada novo produto, novas cepas resistentes aparecem, perpetuando este ciclo vicioso. Embora a maioria dos registros de resistência esteja associado ao *Boophilus spp.*, a resistência de diferentes espécies de carrapatos a um mesmo acaricida tem sido reportado na literatura (Schroder, 1992), levando à contínua necessidade de se

desenvolver novos acaricidas. Existem evidências cada vez maiores (Pegram et al., 1991; Cherma, 1990) de que a estratégia baseada simplesmente no uso de acaricidas, de modo a promover o controle total do carrapato, não tem sido economicamente viável. Essas evidências, combinadas com a preocupação da sociedade de se ter produtos sem contaminação química e preservação do meio ambiente, têm levado os pesquisadores a procurarem por outras alternativas.

b) Vacinas

Vacinas contra carrapatos baseadas em um antígeno tem provado ser um método alternativo de controle de carrapatos bastante efetivo (Willadsen et al., 1995; Rodriguez e al.1995). Essas vacinas, baseadas no antígeno Bm86, atuam na ativação do sistema imunológico dos bovinos com posterior formação de anticorpos específicos contra substância protéica, de natureza antigênica. Os anticorpos ingeridos pelos carrapatos durante a alimentação (hematofagismo) produzirão lesões intestinais nos carrapatos, levando-os à morte ou causando-lhes danos que irão interferir em sua reprodução (Kemp et al., 1989). O efeito da vacinação ao longo do tempo pode reduzir entre 70 e 90% o número de carrapatos sobreviventes entre uma geração e a seguinte. A redução do número de fêmeas de carrapatos que ficam ingurgitadas em qualquer infestação pode ser insignificante ou, então, atingir níveis de 20 a 30% de eficiência (Willadsen et al., 1995). Dessa forma, a vacinação tem pouco ou nenhum efeito imediato sobre o número de carrapatos. A efetividade em manter a infestação abaixo de um determinado número de carrapatos que não provoquem perdas econômicas significativas é dependente do uso da vacina como parte integrante de um programa de controle integrado do carrapato. Para raças com resistência média acima de 95% (como definido por Utech et al., 1978), o uso correto da vacina pode manter a população de carrapatos abaixo de níveis economicamente significativos, sem a necessidade de se utilizar acaricidas. Segundo Utech et al. (1978), em muitas raças bovinas, cerca de 20% dos animais carregam 50% dos carrapatos, sugerindo que a eliminação desses animais podem melhorar o desempenho da vacinação. Todavia, quando animais de baixa resistência (<85%) são desafiados com alta infestação, somente o uso de vacinas não controla satisfatoriamente os carrapatos. Esse problema tem sido resolvido por meio do uso combinado da vacina com a aplicação estratégica de acaricidas. Recomenda-se usar os acaricidas para reduzir a população de carrapatos a níveis muito baixos e as vacinas para diminuir a taxa de aumento do número de carrapatos.

Simulações do efeito da vacinação, associada ou não ao uso de acaricidas, sobre o número de carrapatos, em animais cruzados holandês-zebu, demonstraram que, embora a revacinação a cada seis meses tenha tido efeito significativo, as infestações por carrapatos ainda aumentaram a níveis elevados (Labarta et al., 1996).

Existe grande variação entre os animais e sua habilidade de resposta ao antígeno Bm86 (Willadsen et al., 1996). Desta forma, os animais com baixa resposta podem contribuir de maneira desproporcional para o aumento de carrapatos na geração seguinte. Além disso, vacinas baseadas em antígenos apresentam um período de imunidade relativamente pequena e a revacinação contínua é necessária para se manter níveis efetivos de anticorpos. Os níveis séricos de anticorpos se mantêm por pelo menos oito semanas sob condições de campo (Willadsen et al., 1995) e a recomendação atual é aplicar doses de reforços a cada dez ou doze semanas. Embora o uso de vacinas tenha grande potencial no controle de carrapatos, as disponíveis atualmente conferem proteção parcial somente a espécie de carrapatos *Boophilus microplus*. A melhoria das vacinas é tecnicamente possível, mas, mesmo assim, parece que a ação integrada utilizando vacinação e animais de alta resistência será economicamente mais eficiente do que se controlar carrapatos apenas com vacinas, principalmente em sistemas de produção a pasto.

c) Animais resistentes

A resistência dos animais, entre e dentro de raças, é o fator mais importante que influencia o custo do controle dos carrapatos, por ser mais barata, permanente e não requerer gasto adicional para se produzir determinada quantidade de produto. Com a globalização, a capacidade dos produtores de se manterem economicamente competitivos está associada à disponibilização, aos consumidores, de produtos saudáveis e de baixo custo. O controle químico dos carrapatos, combinado ou não com vacinas anticarrapatos, aumenta o custo de produção e os riscos de contaminação dos produtos. Assim, a utilização de animais de alta resistência aos carrapatos é de grande importância em qualquer programa onde se deseja a erradicação deles. Em geral, animais

Bos indicus são mais resistentes às doenças parasitárias do que os animais *Bos taurus* (Villares, 1941; Utech *et al.*, 1978). Mais detalhes sobre o assunto podem ser encontrados no trabalho de Teodoro *et al.* (2004), apresentado neste mesmo evento.

Genes de efeito maior

As raças que durante o seu período evolutivo estiveram em contato com os carrapatos de uma determinada espécie, provavelmente, acumularam grande quantidade de genes de pequenos efeitos. Esse efeito, conhecido como poligênico, é o apresentado pelas raças zebuínas em relação ao *B. microplus*. Este tipo de resistência poligênica promove resposta rápida e efetiva à seleção em raças de moderada a alta resistência, mas não é recomendada para aquelas raças de baixa resistência. Para essas, a melhor maneira de sair de um estado em que os carrapatos causam grandes perdas de produtividade, ou mesmo a morte dos animais, para uma situação de convivência com os carrapatos, é explorar genes de efeito maior que possam estar associados à resistência aos carrapatos. Neste sentido, pesquisadores australianos desenvolveram, a partir do cruzamento de animais Hereford e Shorthorn, uma raça sintética de nome Adaptur, resistente aos carrapatos (Frisch, 1999). Todo o processo foi baseado na identificação de um gene de efeito maior, descoberto quase por acidente em alguns poucos animais Adaptur. Por meio do uso contínuo de animais resistentes como pais das novas gerações, a frequência de gene foi aumentando na população ao longo de mais de 30 anos de seleção. O gene anticarrapato tem efeito poderoso sobre o número de carrapatos por animal. Em vários anos de trabalho, o número médio de carrapatos por animal com 2, 1 ou 0 cópias do gene, na raça Adaptur, foi 7, 36 e 128, respectivamente (Frisch, 1994). Assim, cada cópia do gene reduziu seqüencialmente a contagem de carrapatos em 75%. A frequência deste gene na população foi estimada em 25%. Comparações na contagem de carrapatos em animais Adaptur e F1 Adaptur-Hereford indicaram que duas cópias do gene anticarrapato poderiam reduzir o número de carrapatos nos animais Hereford em cerca de sete carrapatos por dia, minimizando a necessidade do uso de vacinas e eliminando a necessidade do uso de acaricidas. O inter cruzamento para obtenção de animais homocigotos pode ser realizado após a primeira geração, caso o interesse seja produzir um animal composto resistente aos carrapatos ou promover a introgressão do gene em uma raça pura. A grande dificuldade neste caso é diferenciar os animais homocigotos dos heterocigotos, pois o fenótipo não propicia uma diferenciação precisa. Os heterocigotos com *background* de baixa resistência podem ser tão ou mais resistentes que os homocigotos com *background* de baixa resistência. A maneira de se resolver esse problema é por meio de um marcador para o gene anticarrapato. Além do problema relacionado à identificação dos animais homocigotos no processo de introgressão, o uso de marcadores para o gene anticarrapato pode eliminar a necessidade de se medir rotineiramente a resistência dos animais por meio da exposição aos carrapatos, além de aumentar consideravelmente a precisão da genotipagem. A identificação dos animais resistentes por meio de marcadores pode também evitar perdas de produtividade associadas à criação de animais de raças temperadas em ambientes tropicais. Os resultados apresentados por Frish (1999) indicam que é possível gerar animais *Bos taurus* com alta resistência aos carrapatos pela introgressão do gene anticarrapato. Todavia, é altamente desejável que esse processo de introgressão se dê por meio de uma ação de multigenes, de modo a reduzir a possibilidade dos carrapatos superarem o efeito de resistência de um único gene devido à ocorrência de mutação.

A iniciativa da Embrapa Gado de Leite

Considerando a grande importância da existência de alternativas para o controle dos carrapatos, em sistemas de produção no Brasil, a Embrapa Gado de Leite implantou, em 1995, um projeto visando à identificação de marcadores moleculares, em bovinos, associados à resistência a endo (vermes gastrointestinais), ectoparasitas (carrapatos e bernes) e ao estresse térmico. O projeto está baseado na produção de 400 animais F2 provenientes do inter cruzamento de animais F1 Gir-Holandês. Até o presente momento, mais de 300 animais F2 já foram produzidos e mais de 170 já foram avaliados para resistência a infestações por carrapatos. Amostras de pele coletadas no pavilhão interno da orelha dos animais têm permitido a avaliação do número de mastócitos antes e após a infestação dos animais, com a finalidade de verificar possíveis alterações. Amostras de sangue são coletadas regularmente para a extração de DNA e posterior uso nos trabalhos de associação entre genes candidatos e marcadores microssatélites com as respostas fenotípicas. Assim, em um trabalho preliminar, Martinez *et al.* (2004) estudaram as associações entre a

resistência aos carrapatos de 177 animais F2 com os alelos do gene BOLA-DRB3.2. Os resultados indicaram associações significativas ao nível de 10% de probabilidade entre o log da contagem de carrapatos e os alelos 10 e 42 deste gene. Estes resultados serão futuramente confirmados ou não, quando todos os 400 animais tiverem suas resistências medidas. Semelhantemente, estudos com outros genes candidatos e com mais de 150 marcadores microssatélites distribuídos por todo o genoma do bovino serão realizados, visando alcançar os objetivos do projeto. Além da resistência aos carrapatos, estudos relacionados à tristeza parasitária com marcadores e genes candidatos também serão realizados, esperando-se, no prazo de dois anos, a obtenção de resultados conclusivos sobre esses estudos.

CONCLUSÕES

Não há a menor dúvida de que por algum tempo, ainda, o uso de acaricidas será o modo de ação mais empregado no controle dos carrapatos. Todavia, o mau uso deles, a resistência recorrente dos carrapatos aos novos produtos, as exigências de mercado por produtos livres de químicas e a crescente preocupação com o meio ambiente certamente são fatores que pressionarão a sua utilização em menor escala. As modernas vacinas anticarrapatos, embora possam ter suas eficiências melhoradas, dificilmente eliminarão o uso de acaricidas, principalmente nos sistemas em que as produções foram baseadas na exploração de raças com baixa resistência aos carrapatos. A forma mais barata e de menor risco ao meio ambiente e aos produtos para o controle do carrapato é, e será cada vez mais, a utilização de animais resistentes, embora não exista nenhuma raça que seja totalmente resistente. Para situações em que se exploram raças de média a alta resistência, a seleção dos indivíduos por meio de um índice de seleção que combine características produtivas e resistência aos carrapatos pode levar a respostas altamente satisfatórias. A introgressão de genes de efeito maior nessas raças aumentará a resposta à seleção. Para isto, o uso de marcadores de genes anticarrapatos será de grande importância para aumentar a precisão na identificação dos indivíduos resistentes e para diminuir possíveis gastos com indivíduos não-desejáveis. No futuro, a combinação do uso de indivíduos altamente resistentes aos carrapatos e das vacinas anticarrapatos certamente levará à eliminação do uso dos acaricidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEMA, S. Summing-up of strategies for the control of ticks in Africa. **Parasitologia**, Roma, v. 32, p. 201-202, 1990.
- FRISCH, J. E.; O'NEILL, C. J.; KELLY, M. J. Using genetics to control cattle parasites – The Rockhampton experience. **Int. J. Parasitology**, v. 30, p. 253-264, 2000.
- FRISCH, J. E. Identification of a major gene for resistance to cattle ticks. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 4., 1994, Guelph, Ontario. **Proceedings...** Guelph, 1994. p. 293-295.
- FRISCH, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **Int. J. Parasitology**, v. 29, p. 57-71, 1999.
- FURLONG, J.; DERESZ, F.; MATOS, L. L. de; BALBI, M. V. The effect of cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) infestation on feed intake and milk yield of Holstein x Zebu crossbred cows. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE VETERINÁRIA, 15., 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 1996. p. 340.
- HONER, M. R.; GOMES, A. **O manejo integrado de mosca dos chifres, berne e carrapatos em gado de corte**. Campo Grande: Embrapa-CNPGC, 1990. 60 p. (Circular Técnica, 22).
- JONSSON, N. N.; MAYER, D. G.; MATSCHOSS, P. E. et al. Production effects of cattle ticks (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. **Vet. Parasitol.**, v. 78, p. 65-77, 1998.
- KEMP, D. H.; PEARSON, R. D.; GOUGH, J. M.; WILLADSEN, P. Vaccination against *Boophilus microplus*: localization of anti-gens on tick gut cells and their interaction with the host immune system. **Exp. Appl. Acarol.**, v. 7, p. 43-58, 1989.
- LABARTA, V.; RODRIGUEZ, M.; PENICHET, M. et al. Simulation of control strategies for the cattle tick *Boophilus microplus* employing vaccination with a recombinant Bm86 antigen preparation. **Vet. Parasitol.**, v. 63, p. 131-160, 1996.



- MARTINEZ, M. L.; SILVA, M. V. G. B.; MACHADO, M. A. et al. Associação do gene candidato BoLA-DRB3.2 com resistência a ectoparasitas em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. 1 CD.
- PEGRAM, R.G.; JAMES, A. D.; OOSTERWIJK, G. P. M. et al. Studies on the economics of ticks in Zambia. **Exp. Appl. Acarol**, v. 12, p. 9-26, 1991.
- RODRIGUEZ, M.; PENICHER, M. L.; MOURIS, A. E. et al. Control of *Boophilus microplus* populations in grazing cattle vaccinated with recombinant Bm75 antigen preparation. **Vet. Parasitol.**, v. 57, p. 339-349, 1995.
- SCHRODER, J. Chemical control of ticks on cattle. **Tick vector Biology: medical and veterinary aspects**, Berlin, Spr. 1992.
- TEODORO, R. L.; LEMOS, A. M.; MADALENA, F. E. Effects of ticks *Boophilus microplus* infestations on milk yield of *Bos taurus/Bos indicus* crosses. In: WORLD CONGRESS GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 6., 1998, Armidale. **Proceedings...** Armidale., 1998. p.137-180.
- UTECH, K. B. W.; WHARTON, R. H.; KERR, J. D. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 29, p. 885-895, 1978.
- VILLARES, J. B. Climatologia zootécnica. III. Contribuição ao estudo da resistência e susceptibilidade genética dos bovinos ao *Boophilus microplus*. **Bol. Ind. Anim.**, v. 4, n. 1, p. 60-86, 1941.
- WILLADSEN, P.; BIRD, P.; COBON, G. S.; HUNGERFORD, J. Commercialisation of a recombinant vaccine against *Boophilus Microplus*. **Parasitology**, v. 110, p. 43-50, 1995.
- WILLADSEN, P.; SMITH, D.; COBON, G.; MCKENNA, R.V. Comparative vaccination of cattle against *Boophilus microplus* with recombinant antigen Bm86 alone or in combination with recombinant Bm91. **Parasite Immunol.**, v. 18, p. 241-246, 1996.