



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA**  
**ANIMAL**  
**CURSO DE DOUTORADO**



**COMPONENTES GENÉTICOS SOBRE A RESISTÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE  
DE BOVINOS AO CARRAPATO *RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS*:  
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

**Isadora Inácio Sousa**

**CAMPO GRANDE, MS**  
**2024**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE DOUTORADO**

**COMPONENTES GENÉTICOS SOBRE A RESISTÊNCIA E  
SUSCEPTIBILIDADE DE BOVINOS AO CARRAPATO  
*RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS*: UMA REVISÃO  
SISTEMÁTICA**

Genetics components about the resistance and susceptibility of  
bovines to the *Rhipicephalus (boophilus) microplus* tick: A  
Systematic Review

**Isadora Inácio Sousa**

**Orientador: Prof. Dr. Fábio José Carvalho Faria**

Defesa apresentado ao  
Programa de Pós-graduação  
em Ciência Animal da  
Universidade Federal de Mato  
Grosso do Sul, UFMS como  
requisito parcial para obtenção  
do título de Doutora em  
Ciência Animal.

CAMPO GRANDE, MS  
2024

## **DEDICATÓRIA**

**A mim, dedico.**

## AGRADECIMENTO

Durante todos esses anos, entre todas as adversidades em que passei, tive o apoio incondicional de pessoas incríveis. Essas pessoas foram essenciais para que eu não desistisse desta tese ou da minha própria vida. Algumas sempre fizeram parte da minha vida, outras estavam apenas de passagem e algumas vieram para ficar.

É com muito orgulho que eu agradeço primeiramente à Dra. Fabiane Siqueira. Ela foi a pessoa que mais lutou por mim, que mais acreditou em mim e que não me deixou desistir de tudo. Ao longo dos mais de 10 anos trabalhando juntas, ela foi minha co-orientadora, orientadora, chefe, mãe, amiga, confidente, conselheira e exemplo de tudo o que gostaria de ser na vida, seja como profissional ou pessoa. Não cabem aqui palavras para expressar a minha profunda gratidão por tudo o que você fez e faz por mim.

Em segundo lugar, agradeço ao meu noivo, Saulo, o qual levei mais de 12 anos para reencontrar e ficarmos finalmente juntos. Nossa história foi escrita por linhas tortas, mas nosso futuro é uma reta certa. Obrigada por trazer de volta a sanidade e a calma que tanto me faltaram na vida. Obrigada por me amar tão intensamente e acreditar em mim todos os dias. Por ser meu amor, meu amigo, meu companheiro, meu mundo. Você me faz querer crescer e melhorar cada dia mais. Tens meu amor, eternamente.

E dentre os tantos anjos que entraram na minha vida, eu declaro este parágrafo à Dra. Francisca Fernanda e ao Prof. Gelson Difante, que, em um momento muito delicado e importante da minha vida, me deram todo o apoio que eu precisava. Agradeço imensamente toda a paciência, ajuda e carinho de vocês. Não consigo descrever o quanto foram essenciais para eu chegar aqui.

Sem mais tardar, também agradeço ao Prof. Dr. Fábio Faria, que me aceitou como aluna de mestrado e depois doutorado. Tudo o que precisei, o senhor fez e me ajudou, sempre com muita calma e persistência. Obrigada por nunca desistir de mim também.

Devo um agradecimento especial à Dra. Marlene Barros, da Embrapa Gado de Corte, por sempre se dispor a me ajudar em tudo o que era necessário, por toda a atenção comigo e com a tese. Admiro-lhe imensamente, muito obrigada por tudo.

Também agradeço aos meus amigos de laboratório, que tive o prazer de conhecer e construir amizade. Meus sinceros agradecimentos à Isabella, Franciele, Thalles, Gustavo, Renata, Júlia e Maísa. Carrego vocês no fundo do meu coração.

À toda a equipe de funcionários da Embrapa Gado de Corte, mesmo não sendo participantes da tese, sempre torceram por mim e me apoiaram. Agradeço muito a todos.

Falar sobre família não é algo fácil para mim, pois esta parte da minha vida sempre foi muito desestabilizada. Mas eu não poderia deixar de agradecer à minha mãe Angélica e à minha avó Derli por todo o apoio e amor depositados a mim. Vocês enfrentaram todas as tempestades da vida por mim e por meus irmãos, se sou o que sou hoje, o mérito é de vocês. Espero um dia poder retribuir tudo o que fizeram por mim.

Agradeço também ao meu pai Marcos, minha avó Kênia, minha tia Keila, meu tio Kezer e tia Suzana, minhas primas Nathália e Stephany e meu primo Eros. O tempo foi cruel conosco e a distância nos fez perder momentos valiosos, mas o importante é que hoje somos mais unidos do que tudo e nunca mais vamos nos separar. Obrigada por todo apoio, amor, orações e carinho que vocês me dão todos os dias.

Aos meus amados irmãos Raphael, Matheus e Guilherme, obrigada por sempre acreditarem em mim. Não foi fácil carregar o cargo de irmã mais velha, mas espero que eu tenha sido um bom exemplo em algumas coisas para vocês.

À Florência, Raphaela e Carolina, do laboratório HLAGyn, onde comecei a trabalhar há 1 mês, agradeço por me receberem tão bem e por fazerem os meus dias mais leves.

Ao Dr. Fernando Vinhal, ao Frederico e a Rosane, muito obrigada pela oportunidade de emprego. Espero poder expressar todo o meu conhecimento na área e crescer junto com a empresa.

Agradeço à UFMS, ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e a todo o corpo docente pela oportunidade de desenvolver minha tese de doutorado, por todo o conhecimento obtido no curso e pela concessão da bolsa de doutorado.

Agradeço à Embrapa Gado de Corte, por todas as bolsas concedidas e por dispor da estrutura necessária para a realização desta tese.

Agradeço à CAPES, FUNDECT e CNPq pelas bolsas concedidas ao longo deste curso.

A todos, o meu MUITO OBRIGADA!

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Termos de pesquisa para o acrônimo PICO usado na revisão sistemática componentes genéticos associados com resistência e susceptibilidade de bovinos ao carrapato *R. microplus*.

**Tabela 2.** Quantidade de artigos encontrados pela busca manual nas plataformas *CAB Direct, Scopus, Web of Science e PubMed*.

**Tabela 3.** Informações gerais sobre os artigos: título, autor, ano de publicação, país de origem, raças utilizadas e vertente do estudo.

**Tabela 4.** Componentes genéticos encontrados em animais suscetíveis.

**Tabela 5.** Componentes genéticos encontrados em animais resistentes.

**Tabela 6.** Componentes genéticos encontrados em animais suscetíveis e resistentes.

**Tabela 7.** Componentes genéticos encontrados para carga de carrapatos.

**Tabela 8.** Genes diferencialmente expressos encontrados em animais suscetíveis.

**Tabela 9.** Genes diferencialmente expressos encontrados em animais resistentes.

## **LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1.** Ciclo de vida do carrapato.

**Figura 2.** Questões utilizadas para elencar a elegibilidade dos trabalhos avaliados na etapa de seleção por título e resumo.

**Figura 3.** Questões utilizadas para elencar a elegibilidade dos trabalhos avaliados na etapa de seleção por título e resumo.

## RESUMO

O carrapato bovino, *Rhipicephalus (boophilus) microplus*, é considerado um dos maiores problemas na cadeia produtiva da pecuária de corte e leite. Seu parasitismo gera perdas econômicas que se estendem a diversos setores produtivos, causando danos à pele dos animais e transmitindo doenças que podem levar à morte. Embora existam formas de controlar esse ectoparasita, seja por meios químicos ou vacinas, elas não são suficientes para o manejo de raças mais suscetíveis ao carrapato. Uma solução viável é a utilização da seleção genômica, que permite a identificação de animais geneticamente superiores para diversas características de interesse econômico. Para isso, é necessário ter informações genéticas sobre quaisquer características de interesse. Uma forma viável de obter essas informações é desenvolvendo Revisões Sistemáticas sobre o tema, compilando os diversos dados da literatura e fornecendo respostas mais seguras. Diante do exposto, objetivou-se realizar uma Revisão Sistemática da Literatura a fim de elucidar quais componentes genéticos são responsáveis pela resistência e/ou suscetibilidade de bovinos de corte e leite ao carrapato *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. A primeira etapa consistiu na busca de artigos científicos em quatro bases de dados: *Scopus*, *CAB Direct*, *PubMed* e *Web of Science*. Nessas buscas foram encontrados 26.526 estudos, os quais foram submetidos a duas etapas de triagem. Na primeira etapa de triagem, os artigos foram avaliados apenas pelo título. Na segunda, os demais artigos foram avaliados por título e resumo, em pares. Em seguida, os dados dos artigos restantes foram completamente coletados e todos os trabalhos passaram por outra revisão por pares. Portanto, os 29 artigos restantes foram submetidos à avaliação de qualidade pelo método CASP (*Critical Appraisal Skills Programme*). A avaliação da qualidade da Revisão Sistemática foi realizada utilizando *JBI Critical Appraisal Tools*. Foram encontrados 93 genes diferencialmente expressos, 11 SNPs, nove QTLs, 2 genótipos, 12 genes candidatos e 20 haplótipos. A maioria destes componentes encontrados estão relacionados com respostas imunológicas, alérgicas do hospedeiro. As raças resistentes mais utilizadas nos estudos foram Brahman e Nelore.

## ABSTRACT

The cattle tick, *Rhipicephalus (boophilus) microplus*, is considered one of the biggest problems in the beef and dairy cattle production chain. Its parasitism generates economic losses that extend across various production sectors, causing damage to the animals' skin and transmitting diseases that can lead to death. Although there are ways to control this ectoparasite, whether through chemical means or vaccines, they are not sufficient to manage breeds that are more susceptible to the tick. A viable solution is the use of genomic selection, which allows the identification of genetically superior animals for several characteristics of economic interest. To do this, it is necessary to have genetic information about any characteristics of interest. A good way to obtain this information is by developing Systematic Reviews on the subject, compiling the various data in the literature and providing safer answers. In view of the above, the objective was to carry out a Systematic Literature Review in order to elucidate which genetic components are responsible for the resistance and/or susceptibility of beef and dairy cattle to the *Rhipicephalus (boophilus) microplus* tick. The first step consisted of searching scientific articles in four databases: Scopus, CAB Direct, PubMed and Web of Science. In these searches, 26,526 studies were found, which were subjected to two screening stages. In the first screening stage, articles were evaluated only by title. In the second, the remaining articles were evaluated by title and abstract, in pairs. Then, data from the remaining articles was completely collected and all works underwent another peer review. Therefore, the remaining 29 articles underwent quality assessment using the CASP (*Critical Appraisal Skills Programme*) method. The quality assessment of the Systematic Review was carried out using *JBI Critical Appraisal Tools*. We found 93 differentially expressed genes, 11 SNPs, nine QTLs, 2 genotypes and 20 haplotypes. Most of these components found are related to the host's immunological and allergic responses. The most resistant breeds used in studies were Brahman and Nelore.

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO 1

1.Introdução.....	10
2.Referencial teórico.....	11
2.1. O carrapato-do-boi ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ).....	11
2.2.Resistência e susceptibilidade do bovino ao carrapato-do-boi.....	14
2.3.Fatores imunológicos do hospedeiro contra o carrapato.....	17
2.4.Fatores genéticos do hospedeiro contra o carrapato.....	19
2.5.O que é uma Revisão Sistemática.....	24
2.6. Referências Bibliográficas.....	26

### CAPÍTULO 2 – ARTIGO 1

1.Introdução.....	35
2.Objetivos.....	36
2.1.Objetivo Geral.....	36
2.2.Objetivos específicos.....	36
3.Material e Métodos.....	37
3.1.Pergunta.....	37
3.2.Critérios de elegibilidade.....	37
3.3.Estratégias de busca.....	38
3.4. Descritores.....	38
4. Seleção dos estudos.....	39
4.1.Avaliação Metodológica.....	39
3.6.Síntese dos dados.....	39
3.7.Extração dos dados.....	40
5. Modificações.....	41
6. Resultados esperados.....	41
7.Fontes financiadoras.....	41
8.Conflitos de interesse.....	42
9.Referências Bibliográficas.....	42

### CAPÍTULO 3 – ARTIGO 2

1.Introdução.....	45
2.Material e Métodos.....	46
2.1.Critérios de elegibilidade.....	46
2.2.Fonte de informação.....	47
3.Resultados.....	48
4.Discussão.....	62
4.1. Estudos de DNA.....	62
4.2. Estudos de RNA.....	62
6. Referências Bibliográficas.....	64
5.Referências Bibliográficas.....	66

## CAPÍTULO 1

### 1.Introdução

Como artrópode hematófago obrigatório, o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* representa séria ameaça para produtores de bovinos de corte ou leite. Os prejuízos causados por este parasita são decorrentes tanto de sua ação direta sobre o hospedeiro, como anemias provocadas pelo hematofagismo, baixa conversão alimentar, perda de peso, diminuição na produção de carne e leite, e desvalorização do couro pela ocorrência de lesões e miíases, quanto por perdas indiretas relacionadas à transmissão de patógenos, causadores das doenças babesiose e anaplasnose, que caracterizam o complexo da Tristeza Parasitária Bovina (TPB) (Gomes, 1998; Biegelmeyer et al., 2012).

O tratamento químico é a estratégia mais comum utilizada para controlar o carrapato-do-boi, mas o uso indiscriminado dos acaricidas impõe inúmeras limitações, incluindo a seleção de carrapatos resistentes, a contaminação ambiental, a presença de resíduos químicos em produtos alimentícios e os gastos com instalações, equipamentos adequados para aplicação dos produtos e funcionários, tornando este tipo de controle cada vez menos viável (Gomes, 1998; Frisch, 1999).

Nas últimas décadas, consideráveis recursos e esforços de pesquisadores foram investidos com o intuito de desenvolver uma vacina eficaz controle do carrapato bovino, sendo que os únicos produtos alternativos ao controle químico que foram registrados e estão disponíveis no mercado de alguns países são as vacinas TickGard, desenvolvida na Austrália pela Divisão de Ciências Animais Tropicais do CSIRO, e a Gavac, desenvolvida no Centro de Engenharia Genética e Biotecnologia de Cuba (Martins, 2004). Ambas são baseadas na proteína Bm86, identificada no intestino de fêmeas do carrapato, mas devido a necessidade de várias doses para um período curto de proteção parcial, essas vacinas não tiveram boa aceitação no mercado nacional.

Neste contexto, é imprescindível que novas estratégias de controle sejam desenvolvidas, buscando aliar menor custo e maior eficiência, além de proporcionar proteção imediata e duradoura para bovinos de diversas raças. Assim, vários métodos estão sendo pesquisados como formas alternativas ou complementares ao controle químico. Entre estes destacam-se o uso de microorganismos patogênicos aos carrapatos, como fungos, bactérias e nematóides; a utilização de compostos naturais com efeito repelente ou carrapaticida sobre as larvas; desenvolvimento de vacinas com novos

antígenos ou multi-antígenos; e, a seleção de animais resistentes em programas de melhoramento genético (Biegelmeyer *et al.*, 2012; Siqueira *et al.*, 2013).

Diferentes níveis de resistência dos bovinos ao carrapato foram observados por diversos autores, tanto dentro de raças como entre raças (Carvalho *et al.*, 2010; Mattioli *et al.*, 2000). A maior tolerância de animais *Bos taurus indicus* ao carrapato-do-boi quando comparados com animais *Bos taurus taurus* é amplamente reportada na literatura (Cardoso, 2000; Santos Jr. *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2006). Contudo, o mecanismo genético responsável pela resistência dos bovinos ao carrapato *R. microplus* é um fenômeno complexo e ainda pouco compreendido. Estudos envolvendo cruzamentos entre animais destes grupos apontam, inclusive, uma proporcionalidade entre o número de genes zebuínos e o grau de resistência dos hospedeiros (Cardoso, 2000; Santos Jr. *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2006a; Ayres *et al.*, 2009 - Ver Biegelmeyer *et al.*, 2012).

Sendo assim, é de extrema importância entender quais são os genes ou as variantes alélicas envolvidas na manifestação do fenótipo de resistência bovina ao carrapato *R. microplus* com a finalidade de desenvolver métodos alternativos de controle a este ectoparasita. Portanto, revisões sistemáticas de estudos primários que estudaram os mecanismos genéticos associados à resistência de bovinos ao *R. microplus* proporcionará evidências mais concretas para o desenvolvimento de métodos alternativos de controle do carrapato-do-boi.

Diante disso, objetivou-se sintetizar e analisar criticamente quais são os fatores genético moleculares relacionados com a resistência e/ou susceptibilidade de bovinos contra o carrapato *Rhipicephalus microplus* usando a abordagem revisão sistemática.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. O carrapato-do-boi (*Rhipicephalus microplus*)**

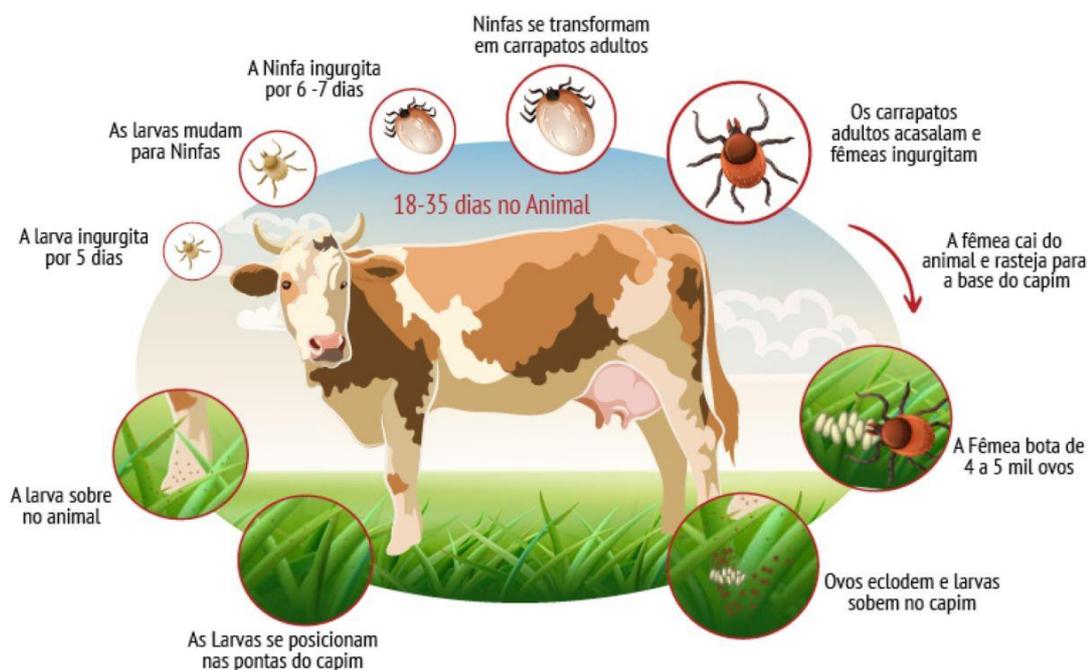
De acordo com a classificação do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI – ID: 6941), *R. microplus* pertence ao Reino Metazoa, Filo Arthropoda, Classe Arachnida, Subclasse Acari, Superordem Parasitiformes, Ordem Ixodida, Superfamília Ixodoidea, Família Ixodidae, Subfamília Rhipicephalinae, Gênero *Rhipicephalus*, Subgênero *Boophilus*, Espécie *R. microplus* e formam um grupo de artrópodes hematófagos obrigatórios.

Sabe-se que a provável origem do carrapato *Rhipicephalus microplus* ocorreu na Ásia e que o mesmo tem preferência por locais de clima quente e úmido, condições que

favorecem o desenvolvimento do seu ciclo de vida (Hoogstraal e Wassef, 1985). A chegada deste ectoparasita decorreu-se pelas explorações e viagens comerciais no século XV, favorecendo a disseminação do carrapato para diversas regiões e países tropicais e subtropicais do globo terrestre como: África, Ásia, Oceania e nas Américas do Sul e Central, causando grandes prejuízos à pecuária local (Nuñez et al, 1982). Acredita-se que sua chegada ao Brasil tenha acontecido pela introdução de animais infestados vindos do Chile, pela região sul em meados do século XVIII. Porém, atualmente o carrapato-do-boi encontra-se amplamente distribuído pelo país e podem ser observadas infestações em diversas raças bovinas (GONZÁLES, 1995).

Apesar da grande parte dos relatos de infestação acontecerem em bovinos, o mesmo pode parasitar outras espécies de mamíferos. O ciclo de vida do carrapato *R. microplus* dura em média de 21 dias (Jongejan e Uilenberg, 2004) e cada fêmea ingurgitada ovipõe cerca de 2.000 a 3.000 ovos que eclodem após 22 a 30 dias de ovipostura (GONZÁLES, 1975). A saliva dos carrapatos possui moléculas que exibem diversas funções para mediar uma refeição de sangue bem-sucedida, agindo contra as respostas hemostáticas, inflamatórias e imunológicas do hospedeiro. Esses componentes salivares do carrapato podem alterar a eficiência da adesão dos leucócitos às células endoteliais na corrente sanguínea (CARVALHO et al., 2010).

## CICLO DE VIDA DO CARRAPATO (*Boophilus microplus*)



**Figura 1.** Ciclo de vida do carrapato.

Este ectoparasita é um dos principais transmissores de patógenos para bovinos (DE CASTRO, 1997) e causa grandes perdas econômicas para a pecuária, além de gerar um alto custo aos produtores (George, Davey, Pound, 2002). Essas infestações podem causar anemia, reações alérgicas, desvalorização do couro, queda na produção de leite, diminuição no ganho de peso, transmissão das doenças babesiose e anaplasmoses e morte (DE CASTRO, 1997; FRISH et al., 2000; JONSSON, 2006).

As diferenças entre a resistência e susceptibilidade do hospedeiro ao carrapato está relacionada com as diferentes raças bovinas. Em geral, sabe-se que raças zebuínas (*Bos indicus*) são mais resistentes ao carrapato *R. microplus* quando comparadas às raças europeias (*Bos taurus*) (KELLEY, 1943; Francis e Little, 1964).

O método mais comum utilizado para o controle do carrapato, empregado desde 1885, (ARTECHE, 1982 apud MERLINI & YAMAMURA, 1998) baseia-se na utilização de produtos químicos. Porém o uso descontrolado destes agentes químicos tem deixado resíduos no meio ambiente e nos produtos finais (carne e leite), além de ter favorecido a seleção de parasitas resistentes (Floate et al, 1997; Glenn Kenned, Cannavan, McCracken, 2000; Kunz e Kemp, 1994). Os prejuízos podem ser ainda maiores com o estabelecimento

de barreiras sanitárias contra resíduos (ANON, 1996). Assim, o uso de carrapaticidas tornou-se uma opção inviável e faz-se necessário o desenvolvimento de alternativas sustentáveis para o controle eficiente deste parasita, como vacinas, cruzamento de raças complementares e o uso de marcadores e seleção genômica para resistência (PRUETT, 1999; Willadsen e Jongejan, 1999).

O manejo integrado de carrapatos consiste na combinação sistemática de pelo menos duas tecnologias de controle com o objetivo de reduzir a pressão de seleção em favor de indivíduos resistentes a acaricidas e controlar populações de carrapatos que afetam negativamente as espécies hospedeiras (RODRIGUEZ-VIVAS et al., 2018). Andreotti et al., (2016) recomenda para o Centro Oeste brasileiro a realização de uma série de cinco tratamentos com carrapaticida de contato com intervalos menores que 21 dias, evitando assim, o desenvolvimento das larvas do carrapato por um período de 105 dias, retirando grande parte da população de larvas das pastagens e, conseqüentemente, diminuindo significativamente a quantidade de teleóginas no pasto.

Além disso, outras medidas complementares, como a vacinação com antígenos dos próprios carrapatos, rotação de acaricidas, rotação de pastagens, manejo nutricional, controle biológico natural (predadores, fungos e nematoides), utilização de raças bovinas resistentes para direcionar cruzamentos, podem auxiliar no controle desse parasita.

## **2.2. Resistência e susceptibilidade de bovinos ao carrapato-do-boi**

A determinação de animais resistentes se dá pela análise de diversos parâmetros mensurados no carrapato e no hospedeiro como: redução no peso dos carrapatos, duração da infestação, número de carrapatos em uma infestação, massa dos ovos e sucesso durante a muda (Trager, 1939). Estes parâmetros foram testados em bovinos e coelhos, onde foi descrito como imunidade anti-carrapato, que é a capacidade do indivíduo previamente exposto de interferir com a alimentação e fecundidade reprodutiva do parasita (Nuttall, 1911; Trager, 1939; Hewetson, 1972).

Nuttall (1911) demonstraram pela primeira vez a imunidade natural dos humanos ao carrapato. Mas foi em 1939 que Trager e colaboradores descreveram esta imunidade experimentalmente quando observaram diminuição no número de larvas que se alimentam e redução do peso delas após repetidas infestações pelo carrapato *Dermacentor variabilis*, mostrando que o hospedeiro desenvolveu resistência contra o parasita. Após este feito, diversos estudos foram desenvolvidos e continuaram a observar

redução na alimentação das larvas, confirmando assim a resistência desenvolvida pelo hospedeiro (Gregson, 1941; Feldman-Muhsam, 1964; Wikel, 1996).

Diversos estudos observaram componentes imunológicos que influenciam diretamente na resistência do hospedeiro durante uma infestação por carrapatos, como altos níveis de eosinófilos, basófilos, células T, mastócitos, imunoglobulinas específicas e histamina (Kemp e Bourne, 1980; de Castro e Newson, 1993; Kashino et al., 2005; Veríssimo et al., 2008; Kongsuwan et al., 2010; Piper et al., 2010; Engracia Filho et al., 2017). Como dito anteriormente, a raça do hospedeiro é um fator chave para a resistência e, conseqüentemente para escolha de infestação do carrapato. O *R. microplus* possui grande preferência por animais de origem taurina em relação aos resistentes animais zebuínos, pois estes possuem fenótipos hereditários obtidos após décadas de uma reprodução seletiva, o que ocasionou no desenvolvimento de uma resposta imune anti-carrapato eficaz (Frisch, 1999; Wambura et al., 1998; Porto Neto et al., 2011b; Jonsson et al., 2014; Biegelmeier et al., 2015). Os carrapatos são atraídos ao hospedeiro pela temperatura corporal do animal, vibrações, estímulos visuais e odor. Diante da falha em desenvolver resistência ao *R. microplus*, bovinos de origem taurina podem proporcionar estas condições ideais ao carrapato, contribuindo para seu ciclo de vida (Frisch, 1999; Osterkamp et al., 1999).

Além dos fatores imunológicos descritos acima, as barreiras físicas das diferentes raças bovinas também contribuem para a resistência e susceptibilidade do hospedeiro ao carrapato. São estas: a espessura/densidade da pelagem do animal, pigmentação da pele (clara ou escura), vibração da pele (espamos), hábito de autolimpeza, capacidade de limpeza das papilas linguais e odor do animal (de Castro et al., 1985; Spickett et al., 1989; Veríssimo et al., 2002, 2015; Martinez et al., 2006; Gasparin et al., 2007).

O hábito de autolimpeza amplamente utilizado em bovinos para controle e redução da carga parasitária, porém o nível de resistência pode estar associado à morfologia da língua. Animais resistentes possuem papilas com espaçamentos menores, o que é mais eficaz na remoção de larvas de *R. microplus*. Além disso, alguns autores observaram que raças mais resistentes se limpam com mais frequência (Riek, 1956; Snowball, 1956; Bennett, 1969; Veríssimo et al., 2015; Kemp et al., 1976). Diversos estudos sugerem que animais com a pelagem menos espessa e menor densidade da pele estão diretamente relacionados com a preferência de fixação e infestação dos carrapatos,

fazendo com que o número seja menor (Spickett et al., 1989; Veríssimo et al., 2002; Gasparin et al., 2007; Marufu et al., 2011).

Em um estudo conduzido por Riek (1962), a resistência de bovinos *B. taurus taurus* e *B. taurus indicus* e de seus cruzamentos, foi avaliada por infestação experimental repetida com o carrapato *R. microplus*. Foram observados dois tipos de resistência: uma resistência adquirida que se tornou evidente após a exposição repetida e uma resistência inata que estava presente em alguns animais, nunca antes expostos, na primeira infestação. A resistência adquirida foi menos evidente em taurinos puros. Quando taurinos puros (Shorthorns) e um grupo de Cruzados de *B. taurus taurus* (Shorthorn) x *B. taurus indicus* (Zebu) foram expostos a infestações naturais, os animais Cruzados apresentaram significativamente maior resistência.

Uma das primeiras formas do hospedeiro se livrar do incômodo causado pelo parasita se dá por meio de autolimpeza ou lambedura, conhecida também como *grooming*, e fricção do corpo em alguma superfície para retirada mecânica (ROCHA, 1976). No entanto, as informações sobre as estratégias imunológicas utilizadas pelos hospedeiros para combater esse tipo de ectoparasita ainda não estão muito consolidadas (CONSTANTINOIU et al., 2010).

A saliva do carrapato contém moléculas que são inoculadas no local da fixação e da picada do carrapato em seus hospedeiros, a fim de modular a resposta imune local e obter sucesso na alimentação (RIBEIRO, 1995). Entretanto, fenótipos contrastantes são observados em bovinos infestados com *R. microplus* (KASHINO et al., 2005) e estão relacionados com diferenças na composição celular e molecular de infiltrados inflamatórios provocados por picadas do parasita.

São descritas mudanças histológicas na pele após a ligação dos vários instares de carrapato. Em bovinos altamente resistentes, a concentração de histamina no sangue atingiu um pico em 48 horas após a infestação com larvas e diminuiu para níveis normais após uma semana. Em bovinos suscetíveis, houve pouca ou nenhuma variação nos níveis de histamina durante o ciclo de vida parasita do carrapato (RIEK, 1962).

Carvalho et al. (2010) demonstraram em um estudo histológico, que as reações cutâneas de hospedeiros resistentes a picadas de carrapatos adultos continham significativamente mais basófilos e eosinófilos em comparação com reações de bovinos da raça suscetível. Além disso, elevados níveis de E-selectina (que promove a adesão das células T de memória) foram encontrados sendo expressos na pele de animais resistentes.

Isso pode explicar a capacidade do hospedeiro resistente ser mais eficiente em produzir respostas em infestações posteriores, limitando, dessa forma, a fixação das teleóginas e a hematofagia.

Pesquisa conduzida por Franzin et al. (2017) sugere que as respostas cutâneas aos carrapatos se desenvolvem mais gradualmente em raças de bovinos geneticamente suscetíveis utilizadas no estudo (Holstein), o que possibilita maior sucesso na alimentação dos carrapatos. Ainda, dependendo de sua origem (taurina ou zebuína), os bovinos expressam diferentes fenótipos quando expostos ao carrapato *R. microplus*. Kashino et al. (2005), indicaram que existem diferenças significativas nas respostas de anticorpos aos antígenos salivares de carrapatos em raças suscetíveis e resistentes de bovinos e que, em raças sensíveis, os níveis de anticorpos IgG1 específicos de saliva são modulados pelo nível de exposição a carrapatos.

O estudo da pele infestada por esses artrópodes pode revelar se existem mecanismos especializados de defesa para controlar esses ectoparasitos (FRANZIN et al., 2017). A existência de divergências genéticas entre bovinos indica diferenças nos mecanismos imunológicos desenvolvidos pelos hospedeiros em resposta ao parasita, ressaltando, assim, a relevância de trabalhos desta natureza.

### **2.3. Fatores imunológicos do hospedeiro contra o carrapato**

Bovinos possuem três subclasses de IgG (IgG1, IgG2 e IgG3) e sabe-se que os carrapatos ingerem uma grande quantidade deste anticorpo. Este componente é encontrado na hemolinfa dos carrapatos e é potencialmente ativo contra as proteínas específicas dos mesmos (Knight et al., 1988; Symons et al., 1989; Kacskovics e Butler, 1996; Rabbani et al., 1997; Gudderra et al., 2002; Saini et al., 2007; Ben-Yakir et al., 1987). Além disso, o hospedeiro resistente possui anticorpos específicos que neutralizam a saliva do carrapato e podem danificar suas glândulas salivares, intestino médio e ovários (Ackerman et al., 1981; Willadsen e Kemp, 1988; Tellam et al., 1992). Em porquinhos-da-índia infestados com o carrapato *Dermacentor andersoni*, os anticorpos produzidos pelo hospedeiro fazem a mediação de reações inflamatórias, recrutando células efetoras e ativando uma resposta imune celular, sendo totalmente prejudicial ao carrapato (Wikel e Whelen, 1986; Hogarth, 2002).

Alguns estudos descreveram que a transferência passiva de plasma de animais resistentes a animais suscetíveis aumenta a resistência ao carrapato por uma nova mediação de anticorpos (Roberts e Kerr, 1976; Shapiro et al., 1986). A resposta de anticorpos aos imunógenos das glândulas salivares e intestinos do carrapato foram relatados em diversos estudos utilizando porquinhos-da-índia, coelhos e camundongos, onde foi observado que a reatividade dos anticorpos aos antígenos do carrapato aumentou (Allen e Humphreys, 1979; Allen, 1989). A quantidade de carrapatos *Amblyomma hebraeum*, *Rhipicephalus appendiculatus* e *Rhipicephalus evertsi evertsi* foi maior na raça suscetível (Hereford), em comparação com a raça resistente (Brahman), com uma correlação positiva entre o nível de infestação de carrapatos e o nível de IgG em hospedeiros suscetíveis (Rechav, 1987). Piper e colaboradores sugerem que anticorpos IgG não conferem imunidade contra o carrapato, pois também descreveram maiores níveis de IgG em animais da raça Holstein-Friesian em comparação aos animais da raça Brahman (Piper et al., 2008, 2009, 2010).

A interpretação dos dados pode ser uma problemática, pois um hospedeiro suscetível terá uma maior carga de carrapatos se alimentando a qualquer momento, o que deveria resultar em uma resposta antigênica maior. Assim, Piper e colaboradores demonstraram em 2017, utilizando animais da raça Santa Gertrudis (5/8 *Bos taurus taurus* e 3/8 *Bos taurus indicus*), que a correlação negativa a de níveis de anticorpos IgG específico para saliva e intestino do carrapato e a resistência do hospedeiro independe do número de vezes que o carrapato se alimenta, pois os animais suscetíveis também apresentaram altos níveis de IgG, mostrando que há ampla variação da resistência ao parasita.

Em contrapartida, Kashino (2005) e colaboradores descreveram baixos níveis de anticorpos IgG1 e IgG2 específicos da saliva em animais Holstein (suscetível) em comparação a animais da raça Nelore (resistente). Apesar dos relatos de diferentes níveis de IgG contra antígenos do carrapato, há variação individual dentro de uma mesma raça bovina em relação à imunidade humoral e as moléculas antigênicas do carrapato (Cruz et al., 2008). Estas diferenças podem ser causadas por uma variação nos alótipos de IgG2 (IgG2a e IgG2b), onde IgG2b foi mais eficiente ao desencadear a reação em cascata do complemento bovino, enquanto animais com alótipos de IgG2a foram mais suscetíveis a patógenos extracelulares (Heyermann e Butler, 1987; Bastida-Corcuera et al., 1999). Alguns estudos observaram que a presença e distribuição de alótipos IgG2 difere significativamente entre as raças e descreveram que 80% de animais suscetíveis (Holstein)

tem as variações IgG2a em grande quantidade e IgG2b em pequena quantidade. Já em animais resistentes, a variação mais frequente é a IgG2b (Butler et al., 1994; Carvalho et al., 2011; Blakeslee et al. 1971).

Carvalho (2011) e colaboradores observaram que certos alótipos de IgG2 podem inibir a função da proteína de ligação de IgG (*IGBPs*). Esta proteína é secretada pelo carrapato macho no hospedeiro, ajudando a fêmea a escapar da resposta imune (Wang e Nuttall, 1999; Santos et al., 2004; Gong et al., 2014). Outras proteínas, como a serina recombinante de *R. microplus* inibidor de protease (*Serpin-rRMS-3* ou RMS-3) foi descrita como potencial antígeno de proteção, pois foi reconhecida por animais resistentes (Rodriguez-Valle et al., 2012). Em 2013, Rodriguez-Valle e colaboradores demonstraram resposta imunológica de animais resistentes a seis lipocalinas do carrapato (LMRs). Ambas as proteínas foram identificadas por análise *in silico* de epítomos de ligação de células B. Já epítomos de célula T de LMRs estimularam uma produção maior de IFN-g (interferon gama) e células secretoras (resposta Th1) em animais Holstein-Friesian em comparação à animais Brahman. Por outro lado, a resposta de Th2 associada a citocina IL4 (interleucina 4) foi menor nos animais Holstein-Friesian. Esta citocina é conhecida por diminuir a produção de células Th1 e IFN-g, sendo um regulador das respostas humoral e adaptativa (Rodriguez-Valle et al., 2013).

Apesar da grande quantidade de estudos que utilizam parâmetros imunológicos para elucidar as respostas dos hospedeiros resistentes e suscetíveis ao carrapato, ainda não há um componente antigênico ou proteico para a produção de uma vacina eficaz contra o *R. microplus*.

#### **2.4. Fatores genéticos do hospedeiro contra o carrapato**

Com o advento da descoberta da estrutura do DNA e posteriores técnicas moleculares desenvolvidas, como a PCR (*Polymerase Chain Reaction*), o sequenciamento automático de DNA e o NGS (*Next Generation Sequencing*), foi possível realizar estudos de associação e expressão gênica para obter respostas dos fatores genéticos intrínsecos que comandam diversas respostas imunológicas no organismo do hospedeiro. A busca por marcadores moleculares para resistência do hospedeiro ao carrapato é amplamente discutida por Porto Neto et al. (2011b) e Mapholi et al. (2014). Alguns estudos ainda utilizaram metodologias imunológicas (Stear et al., 1984, 1990), análises baseadas em

proteínas (Ashton et al., 1968; Carvalho et al., 2008), genes candidatos e seus genótipos (Acosta-Rodriguez et al., 2005; Martinez et al., 2006; Untalan et al., 2007) e detecção de QTLs (*Quantitative Trait Loci*) usando SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) ou marcadores microssatélites (Barendse, 2007; Gasparin et al., 2007; Regitano et al., 2008; Prayaga et al., 2009; Machado et al., 2010; Porto Neto et al., 2010a, 2011a; Turner et al., 2010; Cardoso et al., 2015; Mapholi et al., 2016; Sollero et al., 2017).

Porto-Neto (2010)b e colaboradores desenvolveram uma meta-análise que descreve uma associação genômica com o transcriptoma da pele do hospedeiro durante infestação com o carrapato *R. microplus*, ainda assim, o estudo não possui dados suficientes para uso no melhoramento genético e seleção. Este trabalho, assim como outros, revela que o principal componente associado com a resistência ao carrapato é o MHC (*Major Histocompatibility Complex*), que compreende diversos genes do sistema linfocitário bovino (BoLA). Porém existem diversos genótipos associados com diferentes níveis de resistência e cada sistema de produção pode apresentar resultados distintos. Ainda no mesmo estudo, a equipe de pesquisa identificou uma série de QTLs, porém a maioria eram inconsistentes e com efeitos relativamente fracos ao fenótipo.

Já outros autores encontraram diversos *locus* significativos, porém a maioria com efeitos em torno de 1% da variação fenotípica para a infestação de carrapatos (Barendse, 2007; Turner et al. 2010). A dificuldade para obter dados consistentes se deve ao fato de que a contagem de carrapatos é onerosa e demorada, fazendo com que a maioria dos estudos recorram a um sistema de pontos, que são mais imprecisos do que o feito por contagem. Isto pode interferir em variáveis de análise do estudo, enfraquecendo os resultados obtidos. Cardoso (2015) e colaboradores desenvolveram um estudo de predição genômica para a resistência ao carrapato em animais Braford e Hereford e os resultados obtidos descrevem que a utilização de seleção genômica de animais resistentes pode ser alcançável para o controle do parasita. Em 2017, Sollero e colaboradores identificaram 914 SNPs que explicam mais de 20% da variação genética estimada para o fenótipo de resistência.

Apesar das dificuldades para o uso da abordagem genômica afim de identificar os mecanismos de resistência do hospedeiro, estudos mostram a variação alélica de genes associados com a resistência ao carrapato. Prayaga (2009) e Turner (2010) identificaram por meio de GWAS (*Genome-Wide Association Study*) o gene ELDTD1 (*EGF, latrofilina e sete domínios transmembranares contendo 1*) associado com o fenótipo de resistência em animais de corte e leite. Porém ele apresenta menos de 1% da variação fenotípica total

sobre a característica (Porto Neto et al., 2011a). Já os haplótipos que continham o gene ITGA11 (*Integrina alfa 11*) foram associados à resistência ao carrapato e explicaram 1,5% de variação do fenótipo. O mesmo estudo de GWAS identificou o gene RIPK2 (*Serina-treonina quinase 2*), muito conhecido por participar da modulação de respostas imunes inatas e adaptativas. Além disso, os autores observaram que este gene pode reconhecer antígenos salivares de carrapatos em camundongos. As diferentes respostas do hospedeiro a infestação por carrapato são proferidas a partir de um sistema de respostas complexo, podendo variar entre as raças. Porém, assim como os componentes imunológicos, ainda não temos um componente genético universal que desempenha o papel de resistência ao carrapato em nenhuma espécie.

Outra problemática encontrada em estudos genéticos é a grande diferença entre os parâmetros utilizados entre os estudos, como o número de réplicas amostrais utilizadas, o número de larvas durante infestações, os sistemas de produção e cruzamento das raças e subespécies utilizadas, a metodologia e plataforma usada para medir respostas do hospedeiro (imunohistoquímica, plataformas de microarray, qPCR), os diferentes cenários de tempo de coleta da amostra e o tipo de amostra analisado (pele ou sangue).

Por exemplo, estudos de expressão gênica de leucócitos do sangue periférico (PBL) nos locais de fixação do carrapato na pele do hospedeiro sugerem que os animais resistentes desenvolvem uma resposta estável mediada por células T. Já os animais suscetíveis demonstraram células e perfis de expressão gênica associadas com resposta imune inata e respostas inflamatórias contra a infestação de carrapatos. Estes estudos foram realizados por qPCR, análises de microssatélites e bibliotecas de cDNA para NGS (Kashino et al., 2005; Piper et al., 2009).

Piper (2010) e colaboradores desenvolveram um estudo de expressão gênica utilizando a pele coletada do local de fixação larval e descreveram que citocinas, quimiocinas, imunoglobulinas e fatores do complemento foram diferencialmente expressos com maior regulação em animais resistentes (Brahman) quando comparado com animais suscetíveis (Holstein-Friesian), explicando então que animais taurinos podem facilitar o processo de alimentação de carrapatos pela falta de resposta imune ao local de fixação na pele (Piper et al., 2010). Em um estudo envolvendo coagulação na pele de bovinos resistentes e suscetíveis infestados com *R. microplus* (Carvalho et al., 2010b), os hospedeiros suscetíveis apresentaram um aumento da quantidade de sangue em relação ao tempo de coagulação nos locais de alimentação do carrapato em comparação com a pele de hospedeiros resistentes. Os autores discutem que isso deve ao fato de os animais

resistentes expressarem mais genes associados com proteínas anti-hemostáticas nas glândulas salivares de *R. microplus*, além de codificarem transcritos para proteínas anticoagulantes em um nível mais alto.

No experimento de Piper (2010), os autores também avaliaram a resposta inflamatória do gene ao local de fixação do carrapato na pele do hospedeiro e observaram que animais suscetíveis tiveram uma resposta inflamatória intensa mediados por genes que codificam proteínas de matriz para processos inflamatórios e resposta imune, porém o mesmo não foi observado em animais resistentes. Ainda em 2010, Nascimento e colaboradores construíram uma biblioteca de cDNA a partir de amostras de biópsia da pele de bovinos resistentes e suscetíveis, onde avaliaram os padrões de expressão gênica de três proteínas de ligação ao cálcio. Foi observada alta expressão em animais suscetíveis dos genes *Proteína tumoral controlada pela tradução* (1-TPT1), *Cálcio potencial receptor transiente de proteína de canal vaniloide 6* (TRPV6) e o *Inibidor de cisteína proteinase* (CST6). Um trabalho utilizando microsatélites mostrou genes diferencialmente expressos envolvidos no metabolismo lipídico, controle da inflamação e resposta à infestação por carrapatos em bovinos resistentes (Nelore), durante fixação de larvas de *R. microplus* (Carvalho et al., 2014). Já os animais suscetíveis (Holstein) tiveram baixa resposta de fase aguda durante a infestação, porém apresentaram regulação positiva de genes do cálcio Nascimento et al. (2010).

Os componentes de MHC classe II e proteínas de ligação de cálcio aparecem sendo regulados mais comumente em raças suscetíveis. Outros genes que também apresentam regulação positiva são as apolipoproteínas (transporte de lipídios), lisozimas (antimicrobianos, também encontrado em macrófagos e neutrófilos polimorfonucleares), receptores Toll like, ativadores NFkB e NFkB C1QTNF7 (*Fator de necrose tumoral do complemento C1q - relacionada proteína 7*) e BCL10 (*CLL de células B / linfoma 10*) e vários fatores de complemento. As interleucinas também aparecem, como a IL10, que é considerado um precursor anti-inflamatório da citocina induzida precocemente em animais taurinos, porém pode estar associada a resistência a longo prazo em zebuínos (Domingues et al., 2014; Franzin et al., 2017).

O gene P450, também conhecido como CYP4F3 (*citocromo 450 grupo 4, subfamília F, gene 3*), produz as enzimas do citocromo P450, que são amplamente conhecidas pela síntese e metabolismo de várias moléculas e agentes químicos intracelulares. Este gene induz a degradação de leucotrienos, mediadores químicos

responsáveis por respostas alérgicas. Ele apresenta baixa regulação na pele de animais resistentes e alta regulação em animais suscetíveis infestados por carrapato (Karasuyama et al., 2011; Piper et al., 2010; Carvalho et al., 2014).

Outros genes foram descritos com regulação positiva em raças suscetíveis, como: inibidor da serina peptidase clado F, que atua na regulação negativa de resposta inflamatória; inibidor de tripsina do baço, plasminogênio ativador (serina protease que produz plasmina que catalisa a degradação de polímeros de fibrina em coágulos sanguíneos), prostaglandina D2 sintase, responsável pela inibição da agregação plaquetária (Piper et al., 2010) e fosfoproteína 24, que é uma endopeptidase associada com desgranulação de plaquetas (Franzin et al., 2017). Já em animais resistentes, foram encontrados os seguintes genes com regulação positiva: Cathepsin B (Wang et al., 2007), precursor Cathepsin L2, que são proteases de cisteína e mediadores de mastócitos (Nascimento et al., 2011), Cathepsina D (aspartil protease, mediador de mastócitos) (Franzin et al., 2017), inibidor de serina peptidase clade A, que inibe a elastase de neutrófilos, fosfolipase A2, grupo VII (fator de ativação plaquetária), fatores de coagulação e intensificador de procolágeno C-endopeptidase (Piper et al., 2010).

Franzin (2017) e colaboradores realizaram um estudo de comparação de transcriptomas por NGS com o objetivo de avaliar a resposta de diferentes estágios do carrapato (larvas e fêmeas adultas) de acordo com a sensibilidade ao animal, preferência de alimentação e odor em bovinos resistentes e suscetíveis. Foi observado um aumento de transcritos de evasinas, proteínas imunossupressoras, lipocalinas, histamina, serotonina, metaloproteases e reprotolisina nos carrapatos fixados em animais suscetíveis (Holstein). Em parasitas fixados em bovinos resistentes (Brahman), foram observados maior número de quitinases e proteases de cisteína. A análise de compostos voláteis mostrou que as larvas de carrapato são mais atraídas por animais com menor quantidade destes compostos.

Ainda devemos considerar a imunidade adquirida das raças, que é aquela estabelecida no animal após um determinado período de suscetibilidade durante uma infestação primária (Wagland, 1978). Diante do exposto, é possível afirmar que grande parte da resposta genética de animais resistentes ao carrapato está relacionada a um maior preparo de resposta imune com a presença de células T. Enquanto isso, os animais suscetíveis apresentam respostas inatas e inflamatórias com níveis elevados de anticorpos IgG específico para carrapatos.

No que se diz respeito à comparação de expressão entre os estágios de vida do carrapato, ainda não há dados suficientes ou consolidados que possam elucidar essa questão. Ainda porque o design dos estudos, metodologia de análise e raças utilizadas são muito distintos, sendo que a homogeneidade destes fatores é crucial para o levantamento de um banco de dados e posterior utilização em seleção genômica de animais resistentes.

## **2.5. O que é uma Revisão Sistemática**

Revisões de Literatura (RL) são estudos que geram uma síntese da literatura ou do estado da arte sobre determinado assunto, bem como conhecer quais as lacunas sobre ele. Entre os diversos tipos de revisão de literatura, a revisão narrativa se destaca como a mais utilizada nas diferentes áreas da pesquisa e ciência.

Uma Revisão Narrativa (RN) é uma forma não sistematizada de revisar a literatura e promove atualizações a respeito de um determinado assunto dando ao revisor suporte teórico em curto período. Também pode ser útil na descrição do estado da arte de um assunto específico, sob o ponto de vista teórico ou contextual. Como a RN inclui um processo mais simplificado de revisar a literatura, a questão de pesquisa pode ser mais ampla ou pouco específica e abordar um tema de forma livre, sem rigor metodológico e por isso está sujeita aos vieses (Casarin et al. 2020). Na RN não há obrigatoriedade de que os autores informem com detalhes os procedimentos ou critérios usados para selecionar e avaliar as referências incluídas na análise, pois a forma de seleção é variável e arbitrária (Botelho et al. 2011; Rother, 2007).

Ainda que amplamente utilizada e por não ser sistematizada, a RN não proporciona alta acurácia sobre os dados ali revisados, pois ela pode utilizar a literatura cinzenta como fonte de informação. O termo literatura cinzenta foi estabelecido em 1978 e denomina qualquer tipo de publicação realizada por meios não oficiais, ou seja, não percorrem o processo editorial convencional onde é feita a avaliação por pares. Já uma revisão sistemática (RS), não permite o uso de literatura cinzenta em sua composição, sendo preferível o uso de artigos revisados por pares e publicados em revistas indexadas.

Uma RS pode ser definida como um tipo de síntese que é conduzida por grupos de pessoas hábeis para conduzir um RS, que se propõe a identificar e recuperar evidências relevantes de uma ou várias questões específicas, assim como para avaliar e sintetizar os resultados desta pesquisa (Pearson, 2004; Liberati et al. 2009). De acordo com o manual

Cochrane, uma revisão sistemática usa métodos explícitos e sistemáticos previamente selecionados, com o objetivo de minimizar o viés, fornecendo assim descobertas mais confiáveis a partir das quais conclusões podem ser tiradas e decisões tomadas (Higgins & Green, 2011). Este tipo de revisão segue uma estrutura de um processo pré-definido que requer o uso de métodos rigoroso para garantir que os resultados são confiáveis e significativos para os usuários finais. Revisões sistemáticas são consideradas os pilares da área da saúde baseada em evidências e são amplamente utilizadas para informar o desenvolvimento de diretrizes clínicas confiáveis (Pearson, 2004; Munn et al. 2014; Pearson et al. 2012; Steinberg et al. 2011).

A RS pode ser realizada para confirmar ou refutar se as práticas e teorias atuais são baseadas em evidências relevantes, para estabelecer a qualidade dessa evidência e abordar qualquer dúvida ou variação que possa estar ocorrendo. A realização de uma RS pode resolver conflitos entre diferentes teorias ou metodologias, assim como identificar lacunas, tendências nas evidências atuais e informar a necessidade de futuras pesquisas na área (Munn et al. 2018).

Diante do exposto, o uso da revisão sistemática como ferramenta metodológica de pesquisa se tornou essencial para elucidar e trazer respostas a questões e hipóteses de maneira eficaz e acurada. É a maneira mais segura de tratarmos a grande gama de dados que são gerados diariamente pela produção de pesquisas, na tentativa de trazer clareza em meio à heterogeneidade de informações formadas.

### 3. Referências Bibliográficas

Ackerman, S., Clare, F. B., McGill, T. W., and Sonenshine, D. E. Passage of host serum components, including antibody, across the digestive tract of *Dermacentor variabilis* (Say). *J. Parasitol.* 67, 737–740, 1981.

Acosta-Rodriguez, R., Alonso-Morales, R., Balladares, S., Flores-Aguilar, H., Garcia-Vazquez, Z., and Gorodezky, C. Analysis of BoLA class II microsatellites in cattle infested with *Boophilus microplus* ticks: class II is probably associated with susceptibility. *Vet. Parasitol.* 127, 313–321, 2005.

Allen, J. R. Immunology of interactions between ticks and laboratory animals. *Exp. Appl. Acarol.* 7, 5–13, 1989.

Allen, J. R., and Humphreys, S. J. Immunization of guinea pigs and cattle against ticks. *Nature* 280, 491–493, 1979.

Arthur, D. R. Host and tick relationships: a review. *Journal of Wildlife Disease.* Jan (9); 74-84, 1973.

Ashton, G. C., Seifert, G.W., and Francis, J. An association between serum amylase phenotype and tick infestation in cattle. *Aust. J. Biol. Sci.* 21, 303–308, 1968.

Ayres, D. R.; Baldi, F.; Diaz, I. D. P. S.; Albuquerque, L. G.; Roso, V.M. Estimativas de parâmetros genéticos para números de carrapatos (*Boophilus microplus*) em bovinos da raça Braford, utilizando o método da máxima verossimilhança restrita e inferência Bayesiana. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. Anais... Maringá, PR: RBZ, 2009.

Barendse, W. Assessing Tick Resistance in a Bovine Animal for Selecting Cattle for Tick Resistance by Providing a Nucleic Acid from the Bovine Animal and Assaying for the Occurrence of a Single Nucleotide Polymorphism (SNP). Patent No.WO2007051248 A1, 2007.

Bastida-Corcuera, F. D., Butler, J. E., Yahiro, S., and Corbeil, L. B. Differential complement activation by bovine IgG2 allotypes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 71, 115–123, 1999.

Bennett, G. F. *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae): experimental infestations on cattle restrained from grooming. *Exp. Parasitol.* 26, 323–328, 1969.

Ben-Yakir, D., Fox, C. J., Homer, J. T., and Barker, R. W. Quantification of host immunoglobulin in the hemolymph of ticks. *J. Parasitol.* 73, 669–671, 1987.

Biegelmeyer, P. Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Archivos de Zootecnia*, v. 61, p. 1-11, 2012.

Biegelmeyer, P., Nizoli, L. Q., da Silva, S. S., dos Santos, T. R. B., Dionello, N. J. L., Gúlias-Gomes, C. C. Bovine genetic resistance effects on biological traits of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Vet. Parasitol.* 208, 231–237, 2015.

Blakeslee, D., Butler, J. E., and Stone, W. H. Serum antigens of cattle. II. Immunogenetics of two immunoglobulin allotypes. *J. Immunol.* 107, 227–235, 1971.

Butler, J. E., Navarro, P., and Heyermann, H. Heterogeneity of bovine IgG2-VI. Comparative specificity of monoclonal and polyclonal capture antibodies

Cardoso, V. Avaliação de diferentes métodos de determinação da resistência genética ao carrapato *Boophilus microplus*, em bovinos de corte. Jaboticabal, SP, 108p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2000.

Carvalho, W. A., Bechara, G. H., More, D. D., Ferreira, B. R., da Silva, J. S., and de Miranda Santos, I. K. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: distinct acute phase proteins vary during infestations according to the genetic composition of the bovine hosts, *Bos taurus* and *Bos indicus*. *Exp. Parasitol.* 118, 587–591, 2008.

CARVALHO, W. A.; FRANZIN, A. M.; ABATEPAULO, A. R. R.; OLIVEIRA, C. J. F.; MORE, D. D.; SILVA, J. S.; FERREIRA, B. R.; SANTOS, I. K. F. M. Modulation of cutaneous inflammation induced by ticks in contrasting phenotypes of infestation in bovines. *Veterinary Parasitology*, v. 167, 2010. 260-273

Carvalho, W. A., Domingues, R., de Azevedo Prata, M. C., da Silva, M. V. G. B., de Oliveira, G. C., Guimarães, S. E. F., et al. (2014). Microarray analysis of tick-infested skin in resistant and susceptible cattle confirms the role of inflammatory pathways in immune activation and larval rejection. *Vet. Parasitol.* 205, 307–317, 2014.

Carvalho, W. A., Ianella, P., Arnoldi, F. G. C., Caetano, A. R., Maruyama, S. R., Ferreira, B. R. Haplotypes of the bovine IgG2 heavy gamma chain in tick-resistant and tick-susceptible breeds of cattle. *Immunogenetics* 63, 319–324, 2011.

Carvalho, W. A., Maruyama, S. R., Franzin, A. M., Abatepaulo, A. R. R., Anderson,

Cruz, A. P. R., Silva, S. S., Mattos, R. T., Da Silva Vaz Jr, I., Masuda, A., and Ferreira, C. A. S. Comparative IgG recognition of tick extracts by sera of experimentally infested bovines. *Vet. Parasitol.* 158, 152–158, 2008.

De Castro, J. J. and Newson, R. M. Host resistance in cattle tick control. *Parasitol. Today* 9, 13–17. doi: 10.1016/0169-4758(93)90154-8, 1993.

De Castro, J. J., Cunningham, M. P., Dolan, T. T., Dransfield, R. D., Newson, R. M., and Young, A. S. Effects on cattle of artificial infestations with the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Parasitology* 90, 21–33, 1985.

De Castro, J. Sustainable tick and tick-borne disease control in livestock improvement in developing countries. *Vet. Parasitol.* 71 (2-3): 77-97, 1997.

Domingues, R., Wohlfres-Viana, S., Reis, D. R., Teixeira, H. C., Ferreira, A. P., Guimarães, S. E., et al. (2014). Expression of immune response genes in peripheral blood of cattle infested with *Rhipicephalus microplus*. *Genet. Mol. Res.* 13, 4013–4021, 2014.

E. Differential recognition by tick-resistant cattle of the recombinantly expressed *Rhipicephalus microplus* serine protease inhibitor-3 (RMS-3). *Ticks Tick Borne Dis.* 3, 159–169, 2012.

- Engracia Filho, J. R.; Araújo, C. D.; Pinto, G. N.; Mendes, Y. H. and Bechara, G. H. (2017). Cellular response in the tick feeding site in crossbred cattle artificially infested by *Rhipicephalus microplus*. *Exp. Appl. Acarol.* 72, 171–178, 2017.
- Feldman-Muhsam, B. Laboratory colonies of *Rhipicephalus*. *Bull. WorldHealth Organ.* 31, 587–589, 1964.
- Floate, K. D; Taylor, W. G. and Spooner, R. W. Thin-layer chromatographic detection of ivermectin in cattle dung. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 694:246-51, 1997.
- Francis, J. and Little, D. A. Resistance of Droughtmaster cattle to tick infestation and babesiosis. *Aust. Vet. J.* 40, 247-53, 1964.
- Freitas, C. Genome wide scan for quantitative trait loci affecting tick resistance in cattle (*Bos taurus* x *Bos indicus*). *BMC Genomics* 11:280, 2010.
- Frisch, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. *Int. J. Parasitol.* 29, 57–71, 1999.
- George, J. E.; Davey, R. B.; Pound, J. M. Introduced ticks and tick-borne diseases: the threat and approaches to eradication. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* Nov;18(3):401-16, vi. Review, 2002.
- Glenn Kennedy, D.; Cannavan, A.; McCracken, R. J. Regulatory problems caused by contamination, a frequently overlooked cause of veterinary drug residues. *J. Chromat.* 882: 37-52, 2000.
- Gong, H., Qin, S., Wan, X., Zhang, H., Zhou, Y., Cao, J. Immunoglobulin G binding protein (IGBP) from *Rhipicephalus haemaphysaloides*: identification, expression, and binding specificity. *Parasitol. Res.* 113, 4387–4395, 2014.
- González, J. C. O controle do carrapato do boi. Porto Alegre: Edição do Autor 1995.
- Gorb, S. N.; Beutel, R. G. Evolution of locomotory attachment pads of hexapods. *Naturwissenschaften.* Dec;88(12):530-4, 2001.
- Gregson, J. D. Host immunity to ticks (Acarina). *J. Entomol. Soc.* 38, 12–13, 1941.
- Grisi L. Prováveis prejuízos causados pelo carrapato. *A Hora Veterinária* 125, 2002.
- Gross, T. L; Halliwell, R. E. Lesions of experimental flea bite hypersensitivity in the dog. *Vet Pathol.* Jan;22(1):78-81, 1985.
- Gudderra, N. P., Sonenshine, D. E., Apperson, C. S., and Roe, R. M. Hemolymph proteins in ticks. *J. Insect Physiol.* 48, 269–278, 2002.
- Hewetson, R. W. “The inheritance of resistance by cattle to cattle tick,” in Australian Veterinary Association Conference Paper (Brisbane, QLD), 1972.
- Heyermann, H., and Butler, J. E. The heterogeneity of bovine IgG2-IV. Structural differences between IgG2a molecules of the A1 and A2 allotypes. *Mol. Immunol.* 24, 1327–1334, 1987.

- Hogarth, P. M. Fc receptors are major mediators of antibody based inflammation in autoimmunity. *Curr. Opin. Immunol.* 14, 798–802, 2002.
- Hoogstraal, H.; Wassef, H. Y. *Dermacentor (Indocentor) arosignatus* (Acari; Ixodoidea: Ixodidae): hosts and distribution in the Malay Peninsula, Indonesia, Borneo and Southern Philippines. *J Med Entomol.* 22(6): 644-7, 1985.
- J.M., Ferreira, B. R. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: clotting time in tick-infested skin varies according to local inflammation and gene expression patterns in tick salivary glands. *Exp. Parasitol.* 124, 428–435, 2010b.
- Jongejan, F. and Uilenberg, G. The global importance of ticks. 129,S3-S14, 2004.
- Jonsson, N. N.; Piper, E. K. and Constantinoiu, C. C. Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasite Immunol.* 36, 553–559, 2014.
- Kacskovics, I., and Butler, J. E. The heterogeneity of bovine IgG2-VIII. The complete cDNA sequence of bovine IgG2a (A2) and an IgG1. *Mol. Immunol.* 33, 189–195, 1996.
- Karasuyama, H., Wada, T., Yoshikawa, S., and Obata, K. Emerging roles of basophils in protective immunity against parasites. *Trends Immunol.* 32, 125–130, 2011.
- Kashino, S. S., Resende, J., Sacco, A. M. S., Rocha, C., Proenca, L., Carvalho, W.
- Kelley, R. B. Zebu cross cattle in northern Australia. *Bull. Coun. Scient. Ind. Res., Melb.* No.172; pp. 1-96, 1943.
- Kemp, D. H. and Bourne, A. *Boophilus microplus*: the effect of histamine on the attachment of cattle-tick larvae—studies in vivo and in vitro. *Parasitology* 80, 487–496. doi: 10.1017/S0031182000000950, 1980.
- Kemp, D. H., Koudstaal, D., Roberts, J. A., and Kerr, J. D. *Boophilus microplus*: the effect of host resistance on larval attachments and growth. *Parasitology* 73, 123–136, 1976.
- Knight, K. L., Suter, M., and Becker, R. S. Genetic engineering of bovine Ig. Construction and characterization of hapten-binding bovine/murine chimeric IgE, IgA, IgG1, IgG2, and IgG3 molecules. *J. Immunol.* 140, 3654–3659, 1988.
- Kongsuwan, K.; Josh, P.; Colgrave, M. L.; Bagnall, N. H.; Gough, J. and Burns, B. Activation of several key components of the epidermal differentiation pathway in cattle following infestation with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Int. J. Parasitol.* 40, 499–507, 2010.
- Kunz, S. E.; Kemp, D. H. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. *Rev Sci Tech.* 13:1249-86, 1994.
- L. A. Peripheral cellular and humoral responses to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus* in Santa Gertrudis cattle. *Parasite Immunol.* 39:e12402, 2017.
- Machado, M. A., Azevedo, A. L., Teodoro, R. L., Pires, M. A., Peixoto, M. G., de

- Mapholi, N. O., Marufu, M. C., Maiwashe, A., Banga, C. B., Muchenje, V., MacNeil, M. D., et al. Towards a genomics approach to tick (Acari: Ixodidae) control in cattle: a review. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 475–483, 2014.
- Mapholi, N.O., Maiwashe, A., Matika, O., Riggio, V., Bishop, S. C., MacNeil, M. D. Genome-wide association study of tick resistance in South African Nguni cattle. *Ticks Tick Borne Dis.* 7, 487–497, 2016.
- Marufu, M. C., Qokweni, L., Chimonyo, M., and Dzama, K. Relationships between tick counts and coat characteristics in Nguni and Bonsmara cattle reared on semiarid rangelands in South Africa. *Ticks Tick Borne Dis.* 2, 172–177, 2011.
- N. N. Gene expression in skin of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 126, 110–119, 2008.
- Nascimento, C. S., Machado, M. A., Guimarães, S. E., Guimarães, M. F., Peixoto, J. O., Furlong, J. Differential expression of genes in resistant versus susceptible Gyr x Holstein cattle challenged with the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Genet. Mol. Res.* 9, 1974–1979, 2010.
- Nuñez, J. L.; Muñoz Cobenas, M. E; Moltedo, H. L. *Boophilus microplus*, la garrapata comun del ganado vacuno. 1a ed. Buenos Aires: Hemisfério Sur; 1982.
- Nuttall, G. H. F. On the adaptation of ticks to the habits of their hosts. *Parasitology* 4, 46–67. doi: 10.1017/S0031182000002456, 1911.
- Osterkamp, J., Wahl, U., Schmalfluss, G., and Haas, W. Host-odour recognition in two tick species is coded in a blend of vertebrate volatiles. *J. Comp. Physiol. A* 185, 59–67, 1999.
- Piper, E. K.; Jackson, L. A.; Bagnall, N.; Kongsuwan, K.; Lew, A. E. and Jonsson,
- Piper, E. K.; Jackson, L. A.; Bielefeldt-Ohmann, H.; Gondro, C.; Lew-Tabor, A. E. and Jonsson, N. N. Tick-susceptible *Bos taurus* cattle display an increased cellular response at the site of larval *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* attachment, compared with tick-resistant *Bos indicus* cattle. *Int. J. Parasitol.* 40, 865–875, 2010.
- Piper, E. K.; Jonsson, N. N.; Gondro, C.; Lew-Tabor, A. E.; Moolhuijzen, P.; Vance, M. E. Immunological profiles of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Clin. Vaccine Immunol.* 16, 1074–1086, 2009.
- Piper, E. K.; Jonsson, N. N.; Gondro, C.; Vance, M. E.; Lew-Tabor, A. and Jackson,
- Porto Neto, L. R., Bunch, R. J., Harrison, B. E., and Barendse, W. DNA variation in the gene ELTD1 is associated with tick burden in cattle. *Anim. Genet.* 42, 50–55, 2011a.
- Porto Neto, L. R., Bunch, R. J., Harrison, B. E., Prayaga, K. C., and Barendse, W. Haplotypes that include the integrin alpha 11 gene are associated with tick burden in cattle. *BMC Genet.* 11:55, 2010a.

Porto Neto, L. R., Piper, E. K., Jonsson, N. N., Barendse, W., and Gondro, C. “Meta-analysis of genome wide association and gene expression studies to identify candidate genes for tick burden in cattle,” in 9th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production (Leipzig), 0664, 2010b.

Porto Neto, L. R.; Jonsson, N. N.; D’Occhio, M. J. and Barendse, W. Molecular genetic approaches for identifying the basis of variation in resistance to tick infestation in cattle. *Vet. Parasitol.* 180, 165–172, 2011b.

Prayaga, K. C., Corbet, N. J., Johnston, D. J., Wolcott, M. L., Fordyce, G., and Burrow, H. M. Genetics of adaptive traits in heifers and their relationship to growth, pubertal and carcass traits in two tropical beef cattle genotypes. *Anim. Prod. Sci.* 49, 413–425, 2009.

R. L., Furlong, J. Association of BoLA-DRB3.2 alleles with tick (*Boophilus microplus*) resistance in cattle. *Genet.Mol. Res.* 5, 513–524, 2006.

Rabbani, H., Brown, W. R., Butler, J. E., and Hammarström, L. Genetic polymorphism of the IGHG3 gene in cattle. *Immunogenetics* 46, 326–331, 1997.

Rechav, Y. Resistance of Brahman and Hereford Cattle to African ticks with reference to serum gamma globulin levels and blood composition. *Exp. Appl.Acarol.* 3, 219–232, 1987.

Regitano, L. C. A., Ibelli, A. M. G., Gasparin, G., Miyata, M., Azevedo, A. L. S., Coutinho, L. L. On the search for markers of tick resistance in bovines. *Dev. Biol.* 132, 225–230, 2008.

Reik, R. F. Studies on the reactions of animals to infestations with ticks. VI. Resistance of cattle to infestation with the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust. J. agric. Res.* 13, 532-50, 1962.

Riek, R. F. Factors influencing the susceptibility of cattle to tick infestation. *Aust. Vet. J.* 32, 204–209, 1956.

Roberts, J. A., and Kerr, J. D. *Boophilus microplus*: passive transfer of resistance in cattle. *J. Parasitol.* 62, 485–488, 1976.

Rodriguez-Valle, M., Moolhuijzen, P., Piper, E. K., Weiss, O., Vance, M., Bellgard, M. *Rhipicephalus microplus* lipocalins (LRMs): genomic identification and analysis of the bovine immune response using in silico predicted B and T cell epitopes. *Int. J. Parasitol.* 43, 739–752, 2013.

Rodriguez-Valle, M., Vance, M., Moolhuijzen, P. M., Tao, X., and Lew-Tabor, A.

Saini, S. S., Farrugia, W., Muthusamy, N., Ramsland, P. A., and Kaushik, A. K. Structural evidence for a new IgG1 antibody sequence allele of cattle. *Scand. J. Immunol.* 65, 32–38, 2007.

SANTOS Jr., J. C. B.; FURLONG, J.; DAEMON, E. Controle do carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em sistemas de produção de leite da microrregião fisiográfica fluminense do grande Rio. *Ciência Rural*, v. 30, 2000. 305-311.

Santos, I. K. F.M., Valenzuela, J. G., Ribeiro, J.M. C., Castro, M., Costa, J.N., Costa, A. M. Gene discovery in *Boophilus microplus*, the cattle tick: the transcriptomes of ovaries, salivary glands, and hemocytes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1026, 242–246, 2004.

Shapiro, S. Z., Voigt, W. P., and Fujisaki, K. Tick antigens recognized by serum from a guinea pig resistant to infestation with the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *J. Parasitol.* 72, 454–463, 1986.

Silva, A. M.; Alencar, M. M.; Regitano, L. C. A.; Oliveira, M. C. S. and Barioni Jr., W. Natural infestations of beef cattle females by external parasites in southern Brazil. *World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 8. Belo Horizonte, MG, 2006.

Siqueira, F.; Blecha, I. M. Z.; Machado, M. A.; Coutinho, L. L.. Uso de técnicas de biologia molecular em estudos de avaliação da resistência genética de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus microplus*. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo. Brasília, DF: Embrapa, p. 99-114, 2016.

SILVA, A. M., ALENCAR, M. M., REGITANO, L. C. A., OLIVEIRA, M. C. S., BARIONI Jr., W. Natural infestations of beef cattle females by external parasites in southern Brazil. In: *WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION*, 8. Anais... Belo Horizonte, MG, 2006

Snowball, G. The effect of self-licking by cattle on infestations of cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust. J. Agric. Res.* 7, 227–232, 1956.

Sollero, B. P., Junqueira, V. S., Gomes, C. C. G., Caetano, A. R., and Cardoso, F. F. Tag SNP selection for prediction of tick resistance in Braford and Hereford cattle breeds using Bayesian methods. *Genet. Sel. Evol.* 49:49, 2017.

Spickett, A. M., De Klerk, D., Enslin, C. B., and Scholtz, M. M. Resistance of Nguni, Bonsmara and Hereford cattle to ticks in a Bushveld region of South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 56, 245–250, 1989.

Stear, M. J., Hetzel, D. J., Brown, S. C., Gershwin, L. J., Mackinnon, M. J., and Nicholas, F. W. The relationships among ecto- and endoparasite levels, class I antigens of the bovine major histocompatibility system, immunoglobulin E levels and weight gain. *Vet. Parasitol.* 34, 303–321, 1990.

Stear, M. J., Newman, M. J., Nicholas, F. W., Brown, S. C., and Holroyd, R. G. Tick resistance and the major histocompatibility system. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 62, 47–52, 1984.

Stear, M. J., Nicholas, F. W., Brown, S. C., and Holroyd, R. G. Class I antigens of the bovine major histocompatibility system and resistance to the cattle tick (*Boophilus microplus*) assessed in three different seasons. *Vet. Parasitol.* 31, 303–315, 1989.

Symons, D. B. A., Clarkson, C. A., and Beale, D. Structure of bovine immunoglobulin constant region heavy chain gamma 1 and gamma 2 genes. *Mol. Immunol.* 26, 841–850, 1989.

Tatchell, R. J.; Moorhouse, D. E. The feeding processes of the cattle tick *Boophilus*

*microplus* (Canestrini). II. The sequence of host-tissue changes. *Parasitol*, 58:441-459, 1968.

Tellam, R. L., Smith, D., Kemp, D. H., and Willadsen, P. "Vaccination against ticks," in *Animal Parasite Control Utilizing Biotechnology*, ed W.K. Yong (Boca Raton, FL: CRC Press Inc.), 303–331, 1992.

Trager, W. Acquired immunity to ticks. *J. Parasitol.* 25, 57–81. doi: 10.2307/3272160, 1939.

Turner, L. B., Harrison, B. E., Bunch, R. J., Neto, L. R. P., Li, Y., and Barendse, W. A genome-wide association study of tick burden and milk composition in cattle. *Anim. Prod. Sci.* 50, 235–245, 2010.

Untalan, P. M., Pruett, J. H., and Steelman, C. D. Association of the bovine leukocyte antigen major histocompatibility complex class II DRB3-4401 allele with host resistance to the Lone Star tick, *Amblyomma americanum*. *Vet. Parasitol.* 145, 190–195, 2007.

Veríssimo, C. J., D'Agostino, S. M., Pessoa, F. F., de Toledo, L. M., and de Miranda Santos, I. K. F. Length and density of filiform tongue papillae: differences between tick-susceptible and resistant cattle may affect tick loads. *Parasit. Vectors* 8:594, 2015.

Veríssimo, C. J., Nicolau, C. V. J., Cardoso, V. L., and Pinheiro, M. G. Haircoat characteristics and tick infestation on Gyr (Zebu) and crossbred (Holstein × Gyr) cattle. *Arch. Zootech.* 51, 389–392, 2002.

Veríssimo, C. J.; Bechara, G. H.; Mukai, L. S.; Otsuk, I. P. and Pozzi Arcaro, J. R. Mast cell counts correlate with *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* tick load in different cattle breeds. *Braz. J. Vet. Pathol.* 1, 81–87, 2008.

Wagland, B. Host resistance to cattle tick (*Boophilusmicroplus*) in Brahman (*Bos indicus*) cattle. III. Growth on previously unexposed animals. *Aust. J. Agric. Res.* 29, 401–409, 1978.

Wambura, P. N.; Gwakisa, P. S.; Silayo, R. S. and Rugaimukamu, E. A. Breed-associated resistance to tick infestation in *Bos indicus* and their crosses with *Bos taurus*. *Vet. Parasitol.* 77, 63–70, 1998.

Wang, H., and Nuttall, P. A. Immunoglobulin-binding proteins in ticks: new target for vaccine development against a blood-feeding parasite. *Cell. Mol. Life Sci.* 56, 286–295, 1999.

Wang, M., Guerrero, F. D., Perteau, G., and Nene, V. M. Global comparative analysis of ESTs from the southern cattle tick, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *BMC Genomics* 8, 368–382, 2007.

Wikel, S. K. Host immunity to ticks. *Ann. Rev. Entomol.* 41, 1–22. doi: 10.1146/annurev.en.41.010196.000245, 1996.

Wikel, S. K., and Whelen, A. C. Ixodid-host immune interaction. Identification and characterization of relevant antigens and tick-induced host immunosuppression. *Vet. Parasitol.* 20, 149–174, 1986.

Willadsen, P., and Kemp, D. H. Vaccination with 'concealed' antigens for tick control. *Parasitol. Today* 4, 196–198, 1988.

## CAPÍTULO 2 - Artigo 1

### **Fatores genéticos moleculares contra infestação pelo carrapato *Rhipicephalus microplus* em bovinos: Protocolo de revisão sistemática**

I. I. Sousa<sup>1,2</sup>, F. Siqueira<sup>2</sup>, Roberto, F. F. S.<sup>1</sup>; M. B. Coelho<sup>3</sup>, F. J. C. Faria<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Sanidade Animal, Laboratório de Genômica e Melhoramento Animal, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Sanidade Animal, Laboratório de Nanotecnologia Aplicada, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

**Registro:** O presente protocolo será registrado na plataforma SYREAF (*Systematic Reviews for Animals and Food*), assegurando que não serão desenvolvidas outras revisões sistemáticas com o mesmo tema deste trabalho, por cinco anos.

#### **1. Introdução**

O carrapato bovino *Rhipicephalus microplus* é apontado como um dos principais responsáveis por perdas econômicas nos sistemas de produção dos países tropicais e subtropicais. Os prejuízos causados por este parasita são decorrentes tanto de sua ação direta sobre o hospedeiro, como anemias provocadas pelo hematofagismo e desvalorização do couro pela ocorrência de lesões e miíases, bem como de perdas indiretas relacionadas à transmissão dos patógenos responsáveis pela Tristeza Parasitária Bovina (BIEGELMEYER et al., 2012). Contribuem também para compor o quadro de agravantes deste parasitismo os altos custos com tratamentos químicos, equipamentos, instalações e funcionários.

Diante do contexto, é imprescindível que novos métodos de controle sejam desenvolvidos, buscando aliar menor custo e alta eficiência, além de proporcionar proteção imediata e duradoura para bovinos de corte de diversas raças. Vários métodos de controle estão sendo pesquisados como formas alternativas ou complementares ao controle químico. Entre estes se destacam o uso de micro-organismos patogênicos aos carrapatos, como fungos, bactérias e nematódeos; a utilização de compostos naturais com efeito acaricida ou repelente (fitoterápicos, nutracêuticos e semioquímicos), vacinas

multi-antígenos e a seleção genômica para a característica de resistência ao *R. microplus* (SIQUEIRA et al., 2013).

Contudo, ainda não é possível definir quais são todos os fatores genéticos responsáveis pela resistência ao carrapato em bovinos porque entre os fatores que afetam o nível de resistência de bovinos ao *R. microplus* destaca-se o fator raça. A maior tolerância de animais *Bos taurus indicus* quando comparados com animais *Bos taurus taurus* é amplamente reportada na literatura, e estudos envolvendo cruzamentos entre animais destes grupos apontam, inclusive, uma proporcionalidade entre o número de genes zebuínos e o grau de resistência dos hospedeiros, porém é necessário mensurar o quanto estes genes contribuem para a manifestação da característica (CARDOSO, 2000; SILVA et al., 2006; AYRES et al., 2009). Estas diferenças entre zebuínos e taurinos podem ser utilizadas para adequar genótipo e ambiente, visando aumentar a eficiência produtiva dos sistemas de produção de carne e leite do País.

Sendo assim, é de extrema importância entender quais são os componentes genéticos envolvidos no fenótipo de resistência ao carrapato *R. microplus* em bovinos na finalidade de criar métodos de controle alternativos contra este ectoparasita. Portanto, revisões sistemáticas de estudos que sintetizem os fatores genéticos associados à resistência de bovinos ao *R. microplus* proporcionarão evidências mais concretas para o desenvolvimento de métodos alternativos de controle do carrapato-do-boi.

Desta forma, objetivou-se desenvolver um protocolo de revisão sistemática sobre os componentes genéticos relacionados com a resistência e susceptibilidade de bovinos contra o carrapato *R. microplus*.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo geral**

Acessar os fatores genético moleculares de bovinos contra o carrapato *Rhipicephalus microplus*.

### **2.2. Objetivos específicos**

- a) Acessar os fatores genético moleculares a partir de estudos revisados por pares
- b) Descrever características dos estudos e extrair os dados observados
- c) Identificar a heterogeneidade e viés dos estudos selecionados
- d) Realizar a síntese dos dados encontrados.

### 3. Material e métodos

Este protocolo foi desenvolvido de acordo com PRISMA-P checklist (Moher et al. 2015).

#### 3.1. Pergunta

A pergunta foi baseada no acrônimo PICOS: *population*, *intervention*, *comparator*, *outcome* e *study design* (Donato & Donato, 2019). Sendo:

- *Population*: bovinos;
- *Intervention*: carrapato *R. microplus*;
- *Comparator*: resistente e suscetível;
- *Outcome*: fatores genético moleculares;
- *Study design*: Estudos experimentais.

A pergunta final foi definida como: “Quais são os fatores genético moleculares relacionados com a resistência e/ou susceptibilidade de bovinos contra o carrapato *Rhipicephalus microplus*?”

#### 3.2. Critérios de elegibilidade

Foram adotados como critério de inclusão, artigos que continham as seguintes informações para população (bovinos de todas as idades, raças, sexo, castrados ou não, de qualquer ambiente de produção, sendo pasto e/ou confinamento; intervenção sendo estudos que realizaram experimentos de infestação natural ou artificial com o carrapato *R. microplus* ou que utilizaram dados fenotípicos previamente obtidos em trabalhos anteriores; comparador: resistente e suscetível; resultados sendo fatores genético moleculares, como: genes, mutações estruturais, marcadores moleculares, genes diferencialmente expressos (GDEs), *locus* de característica quantitativa (QTL – *Quantitative trait loci*) e haplótipos e design do como todos sendo experimentais.

Também optamos por não impor limite geográfico, sendo aceito qualquer artigo de qualquer país. O idioma foi definido em português (Brasil), inglês, espanhol ou francês. Também não houve restrições de período de publicação.

Artigos fora do escopo do tema da revisão, com descrição de metodologia incompleta, onde foram utilizadas técnicas, processos, parâmetros, análise estatística ou bioinformática pouco acurados (levando à uma evidência de baixa qualidade) foram excluídos. Trabalhos considerados como literatura cinza também foram descartados.

### 3.3. Estratégias de busca

Uma busca prévia foi realizada para melhor entendimento sobre o contexto genético molecular da resistência e susceptibilidade de bovinos ao *R. microplus* e para verificar a existência de estudos primários sobre o tema. Foram utilizadas as seguintes bases de dados eletrônicas para as buscas de trabalhos: *Scopus*, *PubMed*, *CAB Direct* e *Web of Science*, pelo proxy da Embrapa Gado de Corte.

### 3.4. Descritores

Foram utilizados o mesmo cruzamento em todas as buscas realizadas. Na plataforma *PubMed* foi necessário desfazer os truncamentos e adicionar todas as variações de descritores desejáveis. A estratégia de busca utilizada está descrita abaixo:

**Tabela 1.** Termos de pesquisa para o acrônimo PICO usado na revisão sistemática componentes genéticos associados com resistência e susceptibilidade de bovinos ao carrapato *R. microplus*.

Acrônimo	Descritores	Sequências de descritores + sinônimas
P	Bovinos	1# (“Cattle” OR “Cow” OR “Beef” OR “Calf” OR “Yak” OR “Bos Taurus” OR “Bos Taurus Taurus” OR “Bos Taurus Indicus” OR “Beef Cattle”)
I	<i>R. microplus</i>	2# (tick* OR <i>Rhipicephalus microplus</i> OR <i>boophilus</i> )
C	Resistente e suscetível	-
O	Fatores genético moleculares	3# (gene* OR genom* OR “genetic variability” OR responsiveness OR expression* OR SNP* OR QTL* OR DNA OR RNA OR RNA-Seq* OR sequenc* OR resist* OR susceptib* OR “defense mechanism” OR microRNA OR “next-generation sequencing” OR “whole genome sequencing” OR “signaling pathway” OR transcript* OR “expression profiling” OR “host resistance” OR “host susceptibility” OR “SNP markers” OR “genetic resistance” OR haplotypes OR “trait loci” OR miRNA OR “genetic factor” OR “tick resistance” OR GWAS OR “genome-wide association study” OR post-GWAS OR “molecular marker*”)

#### 4. Seleção dos estudos

Após a conclusão das buscas, os trabalhos encontrados foram submetidos à plataforma Rayyan QCRI® (Ouzzani et al., 2016) para descarte de duplicatas e posteriores etapas de inclusão/exclusão. A primeira triagem se deu pela análise de título por revisor (I.I.S.). A segunda triagem foi realizada por pares (I.I.S. e F.S.), seguindo uma sequência de perguntas para definir a elegibilidade dos trabalhos. Foi elencado um terceiro integrante para a resolução de conflitos entre os revisores (M.B.C). A questões utilizadas estão na figura 1 abaixo:



**Fig. 2.** Questões utilizadas para elencar a elegibilidade dos trabalhos avaliados na etapa de seleção por título e resumo.

#### 4.1. Avaliação qualidade metodológica

Os 29 artigos foram submetidos à avaliação de qualidade pelo método CASP (*Critical Appraisal Skills Programme*). A avaliação da qualidade da Revisão Sistemática foi realizada utilizando *JBI Critical Appraisal Tools*.

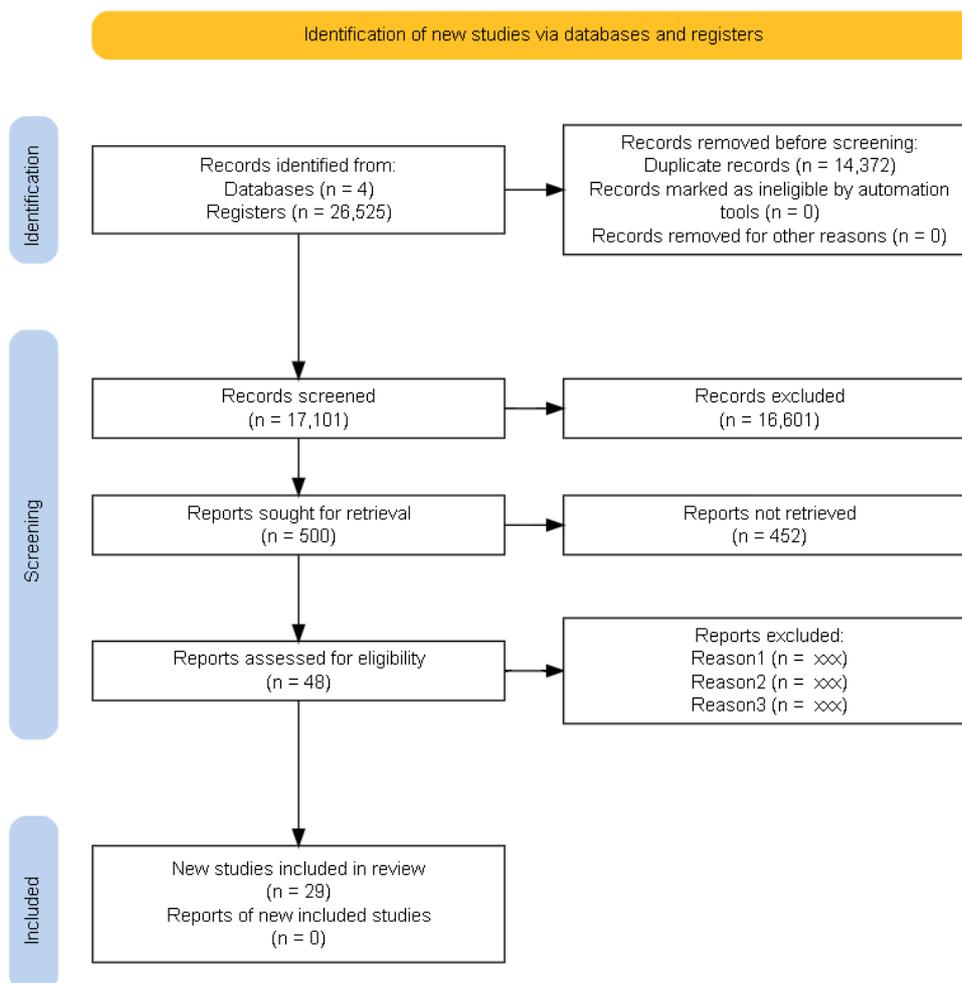
#### 4.2. Síntese dos dados

Os dados foram extraídos por meio de formulário em Excel, individualmente e em pares. Primeiro, os artigos foram selecionados de maneira sortida por cada avaliadora.

Seguidamente, as extrações foram avaliadas por uma segunda integrante, a fim de diminuir riscos de viés de performance (cegamento dos participantes e pesquisadores da revisão), atrito (dados faltantes, perdas) e descrição (forma de coleta dos dados/resultados).

### **4.3. Extração de dados**

Após as triagens, os dados dos artigos foram extraídos manualmente em pares e de maneira independente. A extração foi feita em planilha Excel online e os trabalhos foram distribuídos entre os revisores de maneira aleatória. Foram extraídas informações como título, ano de publicação, autores, país, revista, fator de impacto, qualis, tipo de publicação e objetivo do estudo. Também foram extraídos dados como tamanho amostral, raças utilizadas, tipo de estudo, carrapato utilizado, tipo de infestação, estágio de vida do carrapato na infestação, contagem de carrapato, coletas e tipo de amostra biológica, parâmetros de qualidade do DNA, RNA e proteínas, metodologia de bancada utilizada e sua validação, metodologias estatísticas utilizadas, especificações dos grupos amostrais, ferramentas de bioinformática utilizadas, fatores genéticos encontrados e conclusões. As ausências de dados foram registradas para posterior avaliação de qualidade dos trabalhos.



**Figura 2.** Fluxograma de todas as etapas conduzidas durante a execução desta RS, com as quantidades de artigos que foram encontrados nas bases de dados, quantos foram inseridos e excluídos durante as triagens e a quantidade final de artigos.

## 5. Modificações

Qualquer alteração deste protocolo resultará em alteração datada com descrição e justificativa da modificação.

## 6. Resultados esperados

Espera-se encontrar componentes genéticos tais como: genes, SNPs, QTLs, haplótipos, genótipos e genes diferencialmente expressos em bovinos de corte e leite.

## 7. Fontes financiadoras

A presente pesquisa e protocolo tiveram como fonte financiadora a Embrapa Gado de Corte e Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). As bolsas de apoio foram concedidas pela CAPES e Fundect.

## 8. Conflitos de interesse

Não há conflitos de interesse.

## 9. Referências

Barker TH, Stone JC, Sears K, Klugar M, Tufanaru C, Leonardi-Bee J, Aromataris E, Munn Z. The revised JBI critical appraisal tool for the assessment of risk of bias for randomized controlled trials. *JBI Evidence Synthesis*. 2023;21(3):494-506.

Critical Appraisal Skills Programme (2023). CASP (Randomised Controlled Trial) Checklist. [online] Available at: <https://casp-uk.net/>. Accessed: 16/04/2024.

Mourad Ouzzani, Hossam Hammady, Zbys Fedorowicz, and Ahmed Elmagarmid. Rayyan - a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews* (2016) 5:210, DOI: 10.1186/s13643-016-0384-4.

Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, Shekelle P, Stewart LA. Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis Protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev*. 2015; 4(1):1. doi: 10.1186/2046-4053-4-1.

## CAPÍTULO 3 - Artigo 2

### **A genética molecular por trás da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus microplus*: Uma revisão sistemática**

Sousa, I. I.<sup>1</sup>; Siqueira, F.<sup>2</sup>; Caviglioni, M. B. C.<sup>2</sup>; Roberto, F. F. S.<sup>4</sup> Faria, F. J. C.<sup>3</sup>

1. Doutoranda da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS.
2. Pesquisadoras da Embrapa Gado de Corte.
3. Professor da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS.
4. Pós-doutoranda da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS.

#### **Resumo**

O carrapato bovino *Rhipicephalus microplus* é apontado como um dos principais responsáveis por perdas econômicas nos sistemas de produção dos países tropicais e subtropicais. A utilização do controle químico, seleção genômica e cruzamentos de raças complementares são os principais meios de controle e diversos estudos mostram a influência das diferentes composições raciais na resistência dos animais ao carrapato. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo pesquisar os mecanismos genéticos relacionados com a resistência e/ou susceptibilidade de bovinos ao carrapato-do-boi submetidos a infestação natural ou artificial, sem o uso de controles químicos, a partir de uma análise sistemática de dados publicados na literatura científica. A primeira etapa foi baseada na construção da pergunta de pesquisa a partir da definição de elementos PICO (*Population, Intervention, Comparator and Outcome*). Em seguida, os critérios de elegibilidade dos artigos e os descritores a serem utilizados nas buscas por artigos foram estabelecidos. As combinações de descritores e operadores booleanos foram submetidos às plataformas *PubMed*, *CAB Direct*, *Web of Science* e *Scopus*. Os trabalhos encontrados foram submetidos a duas etapas de processo de exclusão pela plataforma Rayyan QCRI: 1) Exclusão por leitura de título; 2) Exclusão por leitura de título, resumo e de trabalhos classificados como literatura cinza. As buscas resultaram em um total de 26.526 documentos, dos quais foram excluídas 14.372 duplicatas. Assim, foram analisados 17.101 documentos por título, sendo 16.601 trabalhos excluídos. Os 500 documentos restantes foram analisados por título, resumo e estrutura, resultando na inclusão de 48 trabalhos. Após a extração de dados, restaram 29 artigos a serem trabalhados. Os documentos foram submetidos à extração de dados em planilha *Excel online*, sendo cada artigo analisado em pares. Foram encontrados 93 genes diferencialmente expressos, 11 SNPs, nove QTLs, 2 genótipos, 12 genes candidatos e 20 haplótipos. A maioria destes componentes encontrados estão relacionados com respostas imunológicas, alérgicas do hospedeiro. As raças resistentes mais utilizadas nos estudos foram Brahman e Nelore. A busca por mecanismos genéticos na literatura ajudará a direcionar o desenvolvimento de melhores alternativas de controle deste ectoparasita.

**Palavras-chave:** carrapato-do-boi; bovinos de corte; bovinos de leite;

## **Abstract**

The bull tick *Rhipicephalus microplus* is pointed as the main responsible for economic losses in the production systems of tropical and subtropical countries. The use of chemical control, genomic selection, and breedings are the main way to control and several studies show the influence of the different breed's composition and the resistance of the animals to the tick. This way, the present study has as its objective to research the genetic mechanisms related to the resistance and/or susceptibility of bovines to the bull tick, submitted to natural or artificial infestations, without the use of chemical controls, by doing a systematic analysis of published data on scientific literature. The first step was to build the research question from the definition of PICO elements (*Population, Intervention, Comparator, and Outcome*). Then, was established the eligibility criteria from the supplementary material and the selection of the descriptors. The descriptors and boolean operators combinations were submitted to the platforms *PubMed*, *CAB Direct*, *Web Of Science*, and *Scopus*. The found documents were submitted to two exclusion processes using the Rayyan QCRI platform: 1) Exclusion by title reading; 2) Exclusion by title and abstract reading, and papers classified as grey literature. The searches resulted in a total of 26.526 documents, of which were excluded 14.372 duplicates. Thus, 17.101 documents were analyzed by title, being 16.601 excluded. The 500 remaining papers were analyzed by title, abstract, and structure, resulting in the inclusion of 48 documents. They were all submitted to the data extraction in an online Excel spreadsheet, and every one of the documents was analyzed in pairs. We found 93 differentially expressed genes, 11 SNPs, nine QTLs, 2 genotypes and 20 haplotypes. Most of these components found are related to the host's immunological and allergic responses. The most resistant breeds used in studies were Brahman and Nelore. The search for genetic mechanisms in literature will support the direction and development of better control alternatives for this tick.

**Keywords:** bull tick; beef cattle; dairy cattle

## 1. Introdução

Em situação endêmica por praticamente todo o território nacional, as infestações em bovinos pelo carrapato *Rhipicephalus microplus* causam prejuízos calculados em bilhões de reais, pois o seu hematofagismo gera a desvalorização do couro pela ocorrência de lesões e miíases, bem como a transmissão dos patógenos responsáveis pela Tristeza Parasitária Bovina (Grisi et al., 2002; Biegelmeier, 2012). A estratégia de controle mais utilizada ainda é por meio de acaricidas, porém apenas quando o gado apresenta alta infestação já na fase final do parasita. Além disso, o uso de acaricidas gera contaminações no meio ambiente e no produto final, como a carne e o leite. Os principais prejuízos afetam os animais, como anemias provocadas pelo hematofagismo e desvalorização do couro pela ocorrência de lesões e miíases, bem como a transmissão dos patógenos responsáveis pela Tristeza Parasitária Bovina (Grisi et al., 2002; Biegelmeier, 2012).

Vários métodos de controle estão sendo pesquisados como formas alternativas ou complementares ao controle químico. Entre estes se destacam o uso de microrganismos patogênicos aos carrapatos, como fungos, bactérias e nematódeos; a utilização de compostos naturais com efeito acaricida ou repelente (fitoterápicos, nutracêuticos e semioquímicos), vacinas multi-antígenos e a seleção genômica para a característica de resistência ao *R. (B.) microplus* (Siqueira et al., 2016).

Sistemas de cruzamento de raças bovinas zebuínas e taurinas são amplamente utilizadas para obter melhores resultados relacionados a produção de carne e leite, e essa tem sido uma estratégia proveitosa para controle deste ectoparasita. Alguns estudos mostram que quanto mais proporção genética taurina é utilizada nos cruzamentos, maior será a carga de carrapato (Veríssimo et al., 2002; Silva et al., 2010). Outros autores reforçam que o uso de animais zebuínos em cruzamentos com raças europeias apresenta maior vantagem para controle (Jonsson, 2006; Prayaga et al., 2009).

Porém, com a quantidade de variáveis que podem alterar a expressão do fenótipo de resistência (raça, mecanismo de autolimpeza, vascularização, sexo, estação do ano, idade, espessura e coloração do pelame, comprimento do pelo, número de mastócitos na pele e condição nutricional; Siqueira et al., 2016) ainda não é possível definir quais são todos os fatores imunológicos e genéticos responsáveis pela resistência ao carrapato em bovinos.

Diante do exposto, objetivou-se produzir uma revisão sistemática para elencar os componentes genéticos relacionados com a resistência e/ou susceptibilidade de bovinos ao carrapato *R. microplus*, cujos dados obtidos poderão ser utilizados para o desenvolvimento de novas alternativas de controle deste ectoparasita.

## **2. Material e Métodos**

Foi desenvolvida uma revisão sistemática de acordo com os preceitos do PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*). A equipe envolvida na execução deste trabalho consistiu em três pessoas: uma aluna de doutorado, uma pesquisadora da área de genética molecular animal e uma pesquisadora da área de nanotecnologia. Toda a equipe foi treinada e/ou fizeram cursos certificados para condução de revisões sistemáticas.

### **2.1. Critérios de elegibilidade**

Foram definidos os seguintes elementos de PICOS para condução deste estudo:

I. *Population*: bovinos;

II. *Intervention*: carrapato, ectoparasita, *Rhipicephalus microplus*, *boophilus*;

III. *Comparator*: resistente e suscetível;

IV. *Outcomes*: gene, genômica, genoma, genética, variabilidade genética, SNP, QTL, GWAS, NGS, RNA-Seq, DNA, RNA, marcador molecular, haplótipo, polimorfismo, transcrito, microssatélite, sequenciamento, expressão gênica, mutação, variação estrutural, fator genético, pós-GWAS, análise funcional, resistência genética, resistência do hospedeiro, susceptibilidade do hospedeiro.

V. *Study design*: Estudos experimentais.

Em adição aos critérios de elegibilidade inerentes nos elementos de PICOs descritos acima, outros critérios incluem que a publicação seja em português, inglês, espanhol ou francês e que estejam no formato de artigo avaliado por pares. São documentos ilegíveis para este trabalho: artigos de revisão, dissertações, teses, resumos simples ou expandidos, relatórios, séries de documentos e livros ou capítulos de livros.

## 2.2. Fonte de informação

A busca na literatura foi conduzida nas bases de dados *Scopus*, *PubMed*, *CAB Direct* e *Web of Science*.

Os documentos obtidos pela busca manual foram submetidos à plataforma *Rayyan QCRI* onde foi realizada a exclusão de duplicatas, seguido pela seleção por título e, posteriormente, seleção por título e resumo feita por pares. A decisão final em casos de discordância foi feita por um membro da equipe não participante desta última etapa.

A filtragem por título considerou para a inclusão de documentos a presença de descritores usados nas buscas. A etapa de seleção por título e resumo foi feita seguindo uma sequência de quatro questões apresentadas na figura 1.

**Figura 3.** Esquema de perguntas usadas na seleção de documentos por título e resumo.



Após a primeira extração de dados dos artigos, os mesmos foram avaliados em pares para garantir que todo o conteúdo necessário estava presente nos mesmos. Além de avaliar se eram artigos completos avaliados por pares, podendo assim excluir outros elementos da literatura cinza. Primeiro, os artigos foram selecionados de maneira sortida por cada avaliadora. Seguidamente, as extrações foram avaliadas por uma segunda integrante, afim de diminuir riscos de viés de performance (cegamento dos participantes e pesquisadores da revisão), atrito (dados faltantes, perdas) e descrição (forma de coleta dos dados/resultados). Em seguida, foram extraídos dados por meio de formulário em Excel, onde os dados foram extraídos entre duas pessoas, detalhando os resultados. Os 29 artigos foram submetidos à avaliação de qualidade pelo método CASP (*Critical Appraisal Skills Programme*). A avaliação da qualidade da Revisão Sistemática foi realizada utilizando *JBI Critical Appraisal Tools*.

### 3. Resultados

De acordo com a tabela 2 abaixo, as buscas manuais resultaram em um total de 26.526 documentos. Os artigos foram então submetidos à plataforma Rayyan QCRI para execução das triagens. Foram excluídas 14.372 duplicatas, restando 17.101 documentos para seleção por título, onde foram excluídos 16.601 trabalhos. Os 500 documentos restantes foram analisados em pares por título e resumo, o que resultou na inclusão de 48 trabalhos. Após a extração de dados, foram incluídos 29 artigos.

**Tabela 2.** Quantidade de artigos encontrados pela busca manual nas plataformas *CAB Direct*, *Scopus*, *Web of Science* e *PubMed*.

<b>Plataforma</b>	<b>Documentos</b>
CAB Direct	9.532
Scopus	10.305
PubMed	2.015
WoS	4.675
<b>Total</b>	<b>26.526</b>

**Tabela 3.** Informações gerais sobre os artigos: título, autor, ano de publicação, país de origem, raças utilizadas e vertente do estudo.

<b>Título do artigo</b>	<b>1º autor</b>	<b>Ano de publicação</b>	<b>País</b>	<b>Raças e tamanho amostral</b>	<b>Vertente do estudo</b>
Immune and biochemical responses in skin differ between bovine hosts genetically susceptible and resistance to the cattle tick <i>Rhipicephalus microplus</i>	A. M. Franzin	2017	Brasil	4 Nelores (raça resistente) + 4 Holandes (raça suscetível)	Expressão gênica
Tag SNP selection for prediction of tick resistance in Brazilian Braford and Hereford cattle breeds using Bayesian methods	B. P. Sollero	2017	Brasil	10.673 Hereford e Braford. Subconjunto de 3.445 animais foi genotipado com o Illumina BovineSNP50 BeadChip (50 K; Illumina, San Diego, CA, EUA).	GWAS
Differential expression of genes in resistant versus susceptible Gyr x Holstein cattle challenged with the tick <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	C.S. Nascimento	2010	Brasil	População F2 originada de cruzamento de animais F1 (1/2 Holandes + 1/2 Gir).	Expressão gênica
Expressed sequenced tags profiling of resistant and susceptible Gyr x Holstein cattle infested with the tick <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	C.S. Nascimento	2011	Brasil	<b>Martinez et al., 2006:</b> 376 animais F2 derivados do cruzamento de 27 vacas Gir ( <i>Bos indicus</i> ) × 4 touros Holandês ( <i>Bos taurus</i> ) - esse cruzamento gerou 150 animais F1 (1/2 Gir : 1/2 Holandês); em seguida, 4 touros F1 foram acasalados com 68 fêmeas F1 para gerar os 376 animais F2.	Expressão gênica

Network analysis uncovers putative genes affecting resistance to tick infestation in Braford cattle skin	D. D. Moré	2019	Brasil	Novilhas Braford: hospedeiros R ( n = 20) e S ( n = 19) .	Expressão gênica
Immunological Profiles of Bos taurus and Bos indicus Cattle Infested with the Cattle Tick, Rhipicephalus (Boophilus) microplus	E. K. Piper	2009	Austrália	6 novilhas Holandesas e 6 Brahman.	Expressão gênica
Tick-susceptible Bos taurus cattle display an increased cellular response at the site of larval Rhipicephalus (Boophilus) microplus attachment, compared with tick-resistant Bos indicus cattle	E. K. Piper	2010	Austrália	6 novilhas Holandesas e 6 Brahman, com exposição prévia a R. microplus; 3 novilhas Holandesas e 3 novilhas Brahman provenientes de regiões livres de carrapatos da Austrália.	Expressão gênica
Gene expression in the skin of Bos taurus and Bos indicus cattle infested with the cattle tick, Rhipicephalus (Boophilus) microplus	E. K. Piper	2008	Australia	6 novilhas Holandesas e 6 Brahman.	Expressão gênica
Mapping of quantitative trait loci controlling tick [Rhipicephalus (Boophilus) microplus] resistance on bovine chromosomes 5, 7 and 14	G. Gasparin	2007	Brasil	<b>Martinez et al., 2006.</b> População F2 experimental, com cerca de 300 indivíduos.	GWAS

Association of bovine Toll-like receptor 4 with tick infestation rates and blood histamine concentration	G. Zhao	2013	China	30 Brahman; 34 BMY; 9 Red Angus; 30 Simental e 32 Chinese Holstein	Genotipagem
A genetic and immunological comparison of tick-resistance in beef cattle following artificial infestation with <i>Rhipicephalus</i> ticks	J. K. Marima	2020	África do Sul	12 touros Nguni, 12 touros Brahman, 6 touros Angus e 6 novilhas Angus.	Expressão gênica
Genetic variants in interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) gene are associated with resistance against ticks in <i>Bos taurus</i> and <i>Bos indicus</i>	J. Maryam	2012	Paquistão	95 Sahiwan e 92 Friesian.	Genotipagem
Activation of several key components of the epidermal differentiation pathway in cattle following infestation with the cattle tick, <i>Rhipicephalus</i> ( <i>Boophilus</i> ) <i>microplus</i>	K. Kongsuwan	2010	Austrália	60 novilhas Belmont Red.	Expressão gênica
DNA variation in the gene ELTD1 is associated with tick burden in cattle	L. R. Porto Neto	2010	Austrália	<b>Turner et al., 2010; Prayaga et al. 2009.</b> Amostra 1: subconjunto dos animais do experimento do gado leiteiro taurino (DTE = 1133). Amostra 2: bovinos de corte Brahman e Taurino composto (CRC n = 774).	Genotipagem

The RIPK2 gene: a positional candidate for tick burden supported by genetic associations in cattle and immunological response of knockout mouse	L. R. Porto Neto	2012	Austrália	<p><b>Turner et al. 2010; Prayaga et al. 2009.</b> Total de 1.122 animais, incluindo 6 raças leiteiras; 199 Australian Red; 130 Brown Swiss e seus cruzamentos; 156 Channel Isle e seus cruzamentos; 214 Holandeses e seus cruzamentos; 420 taurinos compostos; 3 taurinos compostos com pelo menos um avô de ascendência zebuína. As raças de corte utilizadas foram: 549 Brahman; 212 composto tropical (50% <i>Bos indicus</i>, Sanga Africano ou outro <i>Bos taurus</i> adaptado tropicalmente; 50% <i>B. taurus</i> não adaptado tropicalmente, TRO).</p>	Genotipagem
Haplotypes that include the integrin alpha 11 gene are associated with tick burden in cattle	L. R. Porto Neto	2010	Austrália	<p>1.055 bovinos leiteiros (DTE): amostra composta por animais da raça Australian Red (AUR, n = 196), da raça Brown Swiss e seus cruzamentos (BSWX, n = 126), das raças Channel Isle e seus cruzamentos (CHA, n = 119), da raça Holandesa e seus cruzamentos (HOLX, n = 187), taurino composto (MIXT, n = 424) e taurino composto com pelo menos um avô de ascendência zebuína (ZEBX, n = 3).</p>	Genotipagem
The Genetic Architecture of Climatic Adaptation of Tropical Cattle	L. R. Porto Neto	2014	Austrália	<p><b>Barwick et al., 2009.</b> 2.112 da raça Brahamn e 2.550 bovinos de um conjunto de gado composto com quantidades variadas de ancestralidade taurina europeia e africana e zebuína, todos criados em ambientes tropicais, totalizando 4.662 touros e matrizes com pedigree.</p>	Genotipagem

Genome wide scan for quantitative trait loci affecting tick resistance in cattle ( <i>Bos taurus</i> × <i>Bos indicus</i> )	M. A. Machado	2010	Brasil	<b>Marinez et al., 2006.</b> 376 animais F2 derivados do cruzamento de 27 vacas Gir ( <i>Bos indicus</i> ) × 4 touros Holandês ( <i>Bos taurus</i> ) - esse cruzamento gerou 150 animais F1 (1/2 Gir : 1/2 Holandês); em seguida, 4 touros F1 foram acasalados com 68 fêmeas F1 para gerar os 376 animais F2.	Genotipagem
Association of BoLA-DRB3.2 alleles with tick ( <i>Boophilus microplus</i> ) resistance in cattle	M. L. Martinez	2006	Brasil	231 animais F2 (Gir x Holandês). População F2 foi produzida pelo cruzamento de fêmeas F1 (50% Gyr : 50% Holandes) com touros F1 da mesma composição genética. Bovinos F1 foram gerados por transferência de embriões em 78 vacas Gir acasaladas com quatro touros Holandeses resultando em um total de 150 animais F1 (machos e fêmeas). Destes, apenas 4 touros F1 foram escolhidos de acordo com seu desempenho para acasalar com 68 fêmeas F1.	Genotipagem
Expression of intracellular calcium signalling genes in cattle skin during tick infestation	N. Bagnall	2009	Austrália	60 novilhas Belmont Red (divididos em 2 grupos de 30).	Expressão gênica
Genome-wide association studies for tick resistance in <i>Bos taurus</i> × <i>Bos indicus</i> crossbred cattle: A deeper look into this intricate mechanism	P. I. Otto	2018	Brasil	<b>Martinez et al., 2006.</b> 476 animais (depois do controle de qualidade da genotipagem), incluindo 4 touros Holandes, 23 vacas Gir, 65 animais F1 e 384 animais F2.	GWAS

Analysis of BoLA class II microsatellites in cattle infested with <i>Boophilus microplus</i> ticks: class II is probably associated with susceptibility	R. Acosta-Rodríguez	2005	México	População 1: 33 novilhos mestiços (3/4 Europeu = 1/2 Simental 1/4 Holandês 1/4 Zebu, cruzamento resultante de F1 Simental). População 2: 59 vacas F1 foram incluídas, sendo divididas em Experimentos A e B. O experimento A incluiu 31 vacas mestiças F1 (1/2 Holstein 1/2 Zebu); o experimento B incluiu 28 novilhas F1.	Genotipagem
Expression of immune response genes in peripheral blood of cattle infested with <i>Rhipicephalus microplus</i>	R. Domingues	2014	Brasil	<b>Martinez et al., 2006.</b> 376 animais F2 derivados do cruzamento de 27 vacas Gir ( <i>Bos indicus</i> ) × 4 touros Holandês ( <i>Bos taurus</i> ) - esse cruzamento gerou 150 animais F1 (1/2 Gir : 1/2 Holandês); em seguida, 4 touros F1 foram acasalados com 68 fêmeas F1 para gerar os 376 animais F2.	Expressão gênica
Analyses of reaction norms reveal new chromosome regions associated with tick resistance in cattle	R. R. Mota	2018	Brasil	928 animais Hereford e 3.435 Braford; subconjunto de 3.545 genotipado com o Illumina BovineSNP50 BeadChip (50 K; Illumina, San Diego, CA, EUA).	Expressão gênica
Genes underlying genetic correlation between growth, reproductive and parasite burden traits in beef cattle	V. M. P. Ribeiro	2021	Brasil	1.230 touros Nelore.	GWAS
Microarray analysis of tick-infested skin in resistant and susceptible cattle confirms the role of inflammatory pathways in immune activation and larval rejection	W. A. Carvalho	2014	Brasil	População experimental F2 endocruzada produzida pelo cruzamento de animais F1 (Gir × Holandês). F2= 13 animais no total cruzados de Gir x Holandês, sendo F2 pré-selecionados resistentes a carrapatos (n = 6) e suscetíveis a carrapatos (n = 7).	Expressão gênica

Modulation of cutaneous inflammation induced by ticks in contrasting phenotypes of infestation in bovines	W. A. Carvalho	2010	Brasil	Holandes (n = 12); Nelore (n = 12)	Expressão gênica
Haplotypes of the bovine IgG2 heavy gamma chain in tick-resistant and tick susceptible breeds of cattle	W. A. Carvalho	2011	Brasil	47 Nelore e 67 Holandês.	Genotipagem
Gene expression profiling of Hereford Shorthorn cattle following challenge with <i>Boophilus microplus</i> tick larvae	Y. H. Wang	2007	Austrália	40 bovinos Hereford Shorthorn.	Expressão gênica

---

Na tabela 2, é possível observar que a maioria dos artigos são provenientes do Brasil, seguido da Austrália. Por mais que existem diversos países produtores de bovinos de corte e leite, a ausência de artigos de outros países nesta revisão sistemática, se deve ao fato de não terem sido incluídos seguindo os critérios de elegibilidade descritos, podendo ser por falta de informações essenciais, baixa qualidade do estudo ou simplesmente por se tratar de literatura cinza. Durante o desenvolvimento deste trabalho, percebemos a ausência de dados ainda nos resumos. Isto pode ter sido um problema, pois a falta de informações "mascarou" alguns artigos candidatos de inclusão, mas na etapa de extração de dados e avaliação de qualidade, eles foram excluídos. A pergunta e os critérios adotados na presente revisão sistemática, especificam que o conteúdo final de interesse são os componentes genéticos responsáveis pela resistência e susceptibilidade ao carrapato e, mesmo que os artigos tragam resultados além deste tema, alguns deles estavam limitados apenas em contagem de carrapatos ou características de produção inerentes ao nosso objetivo. Tivemos a mesma observação sobre os diversos grupos de pesquisa e autores que poderiam ter seus trabalhos inseridos aqui, mas eles apresentaram estas limitações. Isto só reforça a importância de produzir revisões sistemáticas, pois os dados obtidos passam por alto crivo de etapas que excluem vieses, trazendo uma resposta muito mais segura do que o que é encontrado em revisões narrativas. Seguindo uma linha raciocínio mais prática, a revisão sistemática é como um grande experimento, pois acessamos dados de muitas pesquisas, prezando entregar resultado de alta acurácia.

**Tabela 4.** Componentes genéticos encontrados em animais suscetíveis.

<b>Animais suscetíveis</b>	
<b>Componente genético</b>	<b>Tipo de resultado</b>
rs43338299	SNP
ss262957659	SNP
rs29025981 e ss161109814, rs29025981, haplótipos 6,7,8 h1	SNP
NR5A2 e ESRRG	Gene
alo-haplótipo para IgGγ2	Haplótipo
Alelo A do gene TLR4	Genótipo
SAH01, SAH6, SAH8-13 e SAH15	Haplótipo

**Tabela 5.** Componentes genéticos encontrados em animais resistentes.

<b>Animais suscetíveis</b>	
<b>Componente genético</b>	<b>Tipo de resultado</b>
MYO5A, TREML1 e PRSS16, TREM2 , TREML1 , CD83 , MYO5A e PRSS16	Gene
Alelos do gene BoLA-DRB3.2: DRB3.2 *18, *20 e *27	Alelo
rs43338299	SNP
ss262957678	SNP
8, 9, 10 e h5	Haplótipo
PPARGC1A, LIN37, PRKG1, UPK1A e DKK	Gene
Alo-haplótipo IgG $\gamma$ 2 b	Haplótipo
Alelo B do gene TLR4	Genótipo
SAH5, SAH14, SAH16, SAH17 e SAH18; SNPs nos locus Locus P2051, P562 e G319V	Haplótipo e SNP

**Tabela 6.** Componentes genéticos encontrados em animais suscetíveis e resistentes.

<b>Ambos (animais resistentes e suscetíveis)</b>	
<b>Componente genético</b>	<b>Tipo de resultado</b>
TREM1, TREM2 e CD83	Gene
ss262957659	SNP
SAH2-7	Haplótipo

**Tabela 7.** Componentes genéticos encontrados para carga de carrapatos.

<b>Carga de carrapato</b>	
<b>Componente genético</b>	<b>Tipo de resultado</b>
Significância cromossômica $P_c < 0,01$ em BTA 2, BTA10 e BTA27 e significância genômica $P_g < 0,05$ em BTA5, BTA11 e BTA23; QTL específicos para a estação seca no BTA 2 e 10, QTL específicos para a estação chuvosa nos BTA 5, 11 e 27; um QTL altamente significativo para as estações seca e chuvosa na região central do BTA 23.	QTL
rs29019302 e rs29019303, todos no cromossomo BTA13.	SNP
Haplótipo h3 (formado pelos locis 8, 9 e 10).	Haplótipo
Variância genética explicada foi de 0,15%, 0,08% e 0,29% para baixa, média e alta infestação; QTLs nos cromossomos: BTA 1, 2, 5, 6, 7, 9, 11, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 23, 24, 26 e 28.	QTL
BTA15, BTA11 e BTA10 ; rs110197574, rs41665212, rs29019899 e rs110144789; LAMC3 (laminin, gamma 3), ABL1 (ABL proto-oncogene 1, non-receptor tyrosine kinase), FIBCD1 (fibrinogen C domain containing 1), QRFP (pyroglutamylated RFamide peptide); e do rs29019899 (BTA10) são ADAM10 (metallopeptidase domain 10), LIPC (lipase, hepatic) e 5S_rRNA (ENSBTAG00000037226, 5S ribosomal RNA).	QTLs, SNPs e genes

Uma janela no cromossomo 20 (1,59% de variância genética explicada), janelas nos cromossomos 17 e 18.	QTL
Alelos mais frequentes: DRBP1-118 (AF = 0.36), DRB3-184 (AF = 0.35), BM1815-148 (AF = 0.23), BM1815-150 (AF = 0.23) e RM185-100 (AF = 0.18). Menos frequentes: DRB3-156, 162, 182 and 196 (AF = 0.015), BM1815-152, 154 e 182 (AF = 0.015), RM185-108 (AF = 0.015).	Alelos

---

Como esperado, obtivemos diversos tipos de dados a partir dos artigos de DNA, como SNPs, QTLs, alelo, genótipos e haplótipos. Ainda que estes componentes dependam de outras variáveis para entendermos os mecanismos associados às suas expressões, não deixamos de perceber que alguns dados corroboram com os encontrados em RNA, como os haplótipos para IgG, alelos do gene BoLA e DRB, que são conhecidos como responsáveis por diversas respostas imunológicas contra patógenos, respostas alérgicas e de histocompatibilidade.

Apesar de parecer que os dados dos estudos de DNA e RNA não corroborem de imediato, devemos lembrar que estamos falando de dois "sistemas" genéticos diferentes: um é estrutural e o outro é a manifestação intermediada por fatores externos. E apesar de não ser o objetivo desta tese, os dados genéticos de DNA podem ser posteriormente estudados por meio de análise/anotação funcional, que permite explicar as funções moleculares, celulares e biológicas, conectando estas informações com dados de expressão gênica.

**Tabela 8.** Genes diferencialmente expressos encontrados em animais suscetíveis.

<b>Animais suscetíveis</b>
<b>Gene</b>
AWAT-1 (Acyl-CoA Wax Alcohol Acyltransferase 1)*
B2M (Beta-2-Microglobulin)*
BDA20 (Bos taurus major allergen)*
CXCL10 (C-X-C motif chemokine ligand 10)*
CXCL8 (C-X-C Motif Chemokine Ligand 8)*
LFA-1 (Lymphocyte function-associated antigen 1; alpha polypeptide)*
NFKBp65 (v-rel avian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A)*
RANKL (Receptor activator of nuclear factor Kappa-Beta)*
SSA3 (Saccharomyces cerevisiae gene)*
TACR2 (Tachykinin Receptor 2)*
VCAM-1 (Vascular cell adhesion protein 1)*
WNT7A (Wnt Family Member 7A)*
IL-2 (Interleucina 2)**
IL-2Ra (Interleukin 2 Receptor Subunit Alpha)**
IL-1B (Interleucina 1-beta)**
IL-10 (Interleucina 10)**
IL-12 (Interleucina 12)**
IL-18 (Interleucina 18)**
CCR3 (C-C Motif Chemokine Receptor 3)**
NFKBp50 (Nuclear factor NF-kappa-B p50 subunit)**
CCL-2 (Chemokine monocyte chemoattractant protein-1)**
CCL-26 (C-C Motif Chemokine Ligand 26)**
TLR5 (Toll-like receptor 5)**
TLR7 (Toll-like receptor 7)**
TLR9 (Toll-like receptor 9)**
MyD88 (Myeloid differentiation primary response 88)**
CD14 (Cluster of differentiation 14)**
FTH1 (Ferritin heavy chain)**
TRAF6 (TNF Receptor Associated Factor 6)**
BDA20 (Bos taurus major allergen)**
CXCL2/GRO2 (C-X-C motif ligand 2 GRO2 oncogene)**
IL-8 (Interleucina 8)**
IL-6 (Interleucina 6)**
Bt.71689/CLDN11**
CD209 (Cluster of Differentiation 209)**
OGN (Osteoglycin)**
LUM (Lumican)**
Colágeno tipo I**
Colágeno tipo III**
Colágeno tipo IV**
C-C motif (Chemokine)**

BoLA (Bovine Lymphocyte Antigen)\*\*  
OBP (Odorant-binding proteins)\*\*  
HFL-B5 (Fetal lung protein B5)\*\*  
ATP2A1 (SERCA2) (ATPase Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup> Transporting 1)\*\*  
STX5 (Syntaxin 5)\*\*  
CALR (Calreticulina)\*\*  
CCS (Copper Chaperone For Superoxide Dismutase)\*\*  
GSTMA1 (Glutathione S-Transferase Mu 1)\*\*  
KIF23 (Kinesin Family Member 23)\*\*  
IMP3 (Proteína de ligação 3 do mARN de factor II de crescimento tipo insulina)\*\*  
WNT7A (Wnt Family Member 7A)\*\*  
NENF (Neuron-derived neurotrophic factor)\*\*  
FOS (Fos Proto-Oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit)\*\*  
ALOXE (Murine epidermal lipoxygenase)\*\*  
TAC12E (Transcriptionally active chromosome)\*\*  
TAC2 (Tac2 tachykinin 2)\*\*  
SAA3 (Serum Amyloid A3, Pseudogene)\*\*

---

\*Genes encontrados apenas em animais resistentes.

\*\*Genes encontrados e animais resistente e suscetíveis.

**Tabela 9.** Genes diferencialmente expressos encontrados em animais resistentes.

<b>Animais resistentes</b>
<b>Gene</b>
AHNAK (Neuroblast differentiation-associated protein)*
Blimp1 (B-lymphocyte-induced maturation protein 1)*
C1 (SERPING1)*
C2 (SERPING2)*
C3 (SERPING3)*
C4BP (C4b-binding protein)*
CALM3 (Calmodulin 3)*
CASQ1 (Calsequestrin 1)*
CCL28 (C-C Motif Chemokine Ligand 28)*
CD25 (Interleukin-2 receptor alpha chain)*
CFB (Complement Factor B)*
CXC10 (C-X-C motif chemokine ligand 10)*
DPYSL24 (Dihydropyrimidinase like 4)*
FOXP3 (Forkhead box P3)*
GAL3ST1 (Galactose-3-O-Sulfotransferase 1)*
GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)*
IL-22 (Interleucina 22)*
ITPR1 (Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor Type 1)*
KRT14 (Keratin 14)*
KRT5 (Keratin 5)*
MMP9 (Matrix metalloproteinase 9)*
MTHFS (Methenyltetrahydrofolate Synthetase)*
MYADML (Myeloid Associated Differentiation Marker Like, Pseudogene)*
ORA11 (Olfactory Receptor Family 11)*
PLCG1 (Phospholipase Cgamma1)*
PPP3CB (Protein Phosphatase 3 Catalytic Subunit Beta)*
P-selectina*
RBP1 (Retinol binding protein 1)*
SRI (Sorcin)*
TBP (TATA box binding protein)*
TET1 (Tet Methylcytosine Dioxygenase 1)*
TGM1 (Transglutaminase 1)*
TIMP1 (Metalloproteinase Inhibitor 1)*
TNNT3 (Troponin T3, Fast Skeletal Type)*
UPK3A (Uroplakin-3a)*
IL-2 (Interleucina 2)**
IL-2Ra (Interleukin 2 Receptor Subunit Alpha)**
IL-1B (Interleucina 1-beta)**
IL-10 (Interleucina 10)**
IL-12 (Interleucina 12)**
IL-18 (Interleucina 18)**

CCR3 (C-C Motif Chemokine Receptor 3)\*\*  
 NFkBp50 (Nuclear factor NF-kappa-B p50 subunit)\*\*  
 CCL-2 (Chemokine monocyte chemoattractant protein-1)\*\*  
 CCL-26 (C-C Motif Chemokine Ligand 26)\*\*  
 TLR5 (Toll-like receptor 5)\*\*  
 TLR7 (Toll-like receptor 7)\*\*  
 TLR9 (Toll-like receptor 9)\*\*  
 MyD88 (Myeloid differentiation primary response 88)\*\*  
 CD14 (Cluster of differentiation 14)\*\*  
 FTH1 (Ferritin heavy chain)\*\*  
 TRAF6 (TNF Receptor Associated Factor 6)\*\*  
 BDA20 (Bos taurus major allergen)\*\*  
 CXCL2/GRO2 (C-X-C motif ligand 2 GRO2 oncogene)\*\*  
 IL-8 (Interleucina 8)\*\*  
 IL-6 (Interleucina 6)\*\*  
 Bt.71689/CLDN11\*\*  
 CD209 (Cluster of Differentiation 209)\*\*  
 OGN (Osteoglycin)\*\*  
 LUM (Lumican)\*\*  
 Colágeno tipo I\*\*  
 Colágeno tipo III\*\*  
 Colágeno tipo IV\*\*  
 C-C motif (Chemokine)\*\*  
 BoLA (Bovine Lymphocyte Antigen)\*\*  
 OBP (Odorant-binding proteins)\*\*  
 HFL-B5 (Fetal lung protein B5)\*\*  
 ATP2A1 (SERCA2) (ATPase Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup> Transporting 1)\*\*  
 STX5 (Syntaxin 5)\*\*  
 CALR (Calreticulina)\*\*  
 CCS (Copper Chaperone For Superoxide Dismutase)\*\*  
 GSTMA1 (Glutathione S-Transferase Mu 1)\*\*  
 KIF23 (Kinesin Family Member 23)\*\*  
 IMP3 (Proteína de ligação 3 do mARN de factor II de crescimento tipo insulina)\*\*  
 WNT7A (Wnt Family Member 7A)\*\*  
 NENF (Neuron-derived neurotrophic factor)\*\*  
 FOS (Fos Proto-Oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit)\*\*  
 ALOXE (Murine epidermal lipoxygenase)\*\*  
 TAC12E (Transcriptionally active chromosome)\*\*  
 TAC2 (Tac2 tachykinin 2)\*\*  
 SAA3 (Serum Amyloid A3, Pseudogene)\*\*

---

\*Genes encontrados apenas em animais resistentes.

\*\*Genes encontrados e animais resistente e suscetíveis.

Foi possível observar que houve mais genes diferencialmente expressos em animais resistentes do que em suscetíveis e isto se deve justamente ao fato de que cada raça possui diferentes maneiras de se defender contra o carrapato. Isto pode variar por conta dos diferentes níveis de expressão dos genes na barreira física ou linfática do hospedeiro. Por exemplo: animais resistentes apresentaram maior expressão de genes como BDA20, BoLA, de interleucinas, citocinas, quimiocinas, colágeno e queratina. Ou seja, houve uma maior apresentação de células alérgicas, de reconhecimento de antígenos, mediação inflamatória, sinalização de funções celulares e de proteção física da pele. Já animais suscetíveis tiveram baixa regulação destes genes, sugerindo onde está a sua dificuldade em criar uma defesa contra o carrapato.

Assim, podemos inferir que raças geneticamente resistentes ativam diversas respostas imunológicas de maneira mais eficaz durante uma infestação de carrapatos. Devemos lembrar ainda que fatores ambientais também podem afetar o hospedeiro de forma positiva ou negativa. Bovinos adaptados ao clima tropical possuem outras características que se mostram grandes aliadas contra o carrapato, como a menor espessura e quantidade de pelo, maior hábito de limpeza e uma estrutura lingual que permite maior retirada de ectoparasitas do seu corpo. Já bovinos não adaptados possuem pelo mais espesso e em maior quantidade e pele mais fina, promovendo condições ideais para infestação. As raças mais resistentes observadas nos estudos foram Brahman e Nelore.

Os diferentes resultados observados em estudos de RNA e DNA podem não se corroborar entre si, mas isto ocorre pois estamos lidando com dois tipos de materiais genéticos diferentes. O DNA nos mostra todo o conteúdo genético ali contido e o mesmo não muda, independente de eventos intercorrentes. Já o RNA mostra a expressão dessa composição genética, porém o mesmo pode ser alterado sob quaisquer interações com o ambiente. Enquanto o DNA é encontrado apenas em células nucleadas, os transcritos de RNA estão presentes em todos os tecidos e órgãos do corpo. Além disso, são usados materiais biológicos, raças, delineamento experimental, metodologia estatística e molecular distintas para cada tipo de estudo. Ou seja, um estudo proveniente de dados de DNA ou RNA não devem competir entre si, tentando trazer uma especificidade maior entre uma pesquisa e a outra, mas devem ser complementares, aliando a descoberta de estruturas genéticas e suas posteriores validações.

## 6. Discussão

### 6.1. Estudos de DNA

O gene PPAR $\gamma$  (próximo ao gene PPARGC1A) é responsável pela diferenciação de macrófagos e respostas inflamatórias. O gene PRKG1, em baixa infestação, está relacionado com a produção de células interferon- $\alpha$ . O gene LIN37 está relacionado com a proliferação de condrocytes e pode interferir em genes relacionados com a estrutura de proteínas e proliferação celular. O gene DKK1 pode estar relacionado com infecções por *Rickettsia* e patogênese, sugerindo efeitos inflamatórios, se silenciado. Os resultados ainda mostraram os genes BOLA-DQA5, BOLA-DBQ e BOLA-DBQA2 como candidatos por serem relacionados com resistência à parasitas em média e alta infestação. (Mota et al., 2018)

O SNP com o maior efeito em contagem de carrapato (rs110197574) foi mapeado para o gene RPS15P8, que em humanos, codifica uma proteína ribossomal que é um componente de subunidade 40S. Barendse (2010) reportou um polimorfismo no gene RPS13 (ribosomal protein S13) que é associado com o aumento de resistência ao carrapato em bovinos. O gene ADAM10 (ADAM metalloproteinase domain 10; BTA10) codifica um membro caracterizado da família ADAM de metaloprotease, que tem um papel proeminente em inflamação. (Sollero et al., 2017)

As diferenças de polaridade dos aminoácidos da região da dobradiça de distintos haplótipos, que podem afetar as interações da IgG2 bovina com os receptores Fc neonatais do hospedeiro (FcRns) e IGBPs de carrapatos, indicam que certos alo-haplótipos bovinos estão associados a fenótipos de infestações por *R. microplus*. Após exposição intensa, os níveis de anticorpos IgG2 na saliva anti-carrapato permanecem os mesmos em bovinos zebuínos e diminuem nos taurinos. Isto pode explicar diferentes propriedades biológicas dos alótipos de IgG2. (Carvalho et al., 2011)

### 6.2. Estudos de RNA

Animais suscetíveis (taurinos) apresentaram maior expressão de genes em sítios de fixação, sendo estes: interleukin-1B (IL-1B), interleukin-10 (IL-10), nuclear factor kappa-Bp50 (NFKBp50), cluster domain-1a (CD1a), chemokine CC-motif receptor 1

(CCR1), chemokine CC-motif ligand 2 (CCL2), chemokine CC-motif ligand 26 (CCL26), toll-like receptor 5 (TLR5), TLR7, TLR9, myeloid differentiation primary response-88 (MyD88), cluster domain-14 (CD14), ferritin heavy protein polypeptide-1 (FTH1), TNF- $\alpha$  receptor associated factor-6 (Traf-6) e bovine dander allergen-20 (BDA20). Os resultados sugerem estes animais geram uma resposta inflamatória contra a infestação, evidenciado pelos vários genes pró-inflamatórios. Os dados sugerem que este tipo de resposta inflamatória à infestação pode explicar a variação de resistência observada em animais taurinos, sugerindo que o mecanismo de resistência de animais zebuínos adquiriram é diferente da reação inata e hipersensitiva, considerada importante para raças taurinas. (Piper et al., 2008)

Entre os genes encontrados em comum entre as raças (CXCL2/GRO-2, CCL2, IL8, IL6, Bt.71689/CLDN11 e CD209), o gene CD209 foi down-regulated em animais resistentes com infestação por larvas. Também foi observado que existem processos envolvendo dermatite de contato alérgica, inflamação, ativação de quimiocinas e neutrófilos na pele infestada por larvas e ninfas, ou seja, animais resistentes recrutam respostas inflamatórias mais cedo do que animais suscetíveis, semelhante a uma dermatite de contato alérgica. (Frazin et al., 2017; Marima et al., 2020; Kongswan et al., 2010)

Outros genes que podem estar relacionados com resposta inflamatória precoce de animais resistentes são IL-6 (Interleucina 6), genes codificadores de proteínas de fase aguda, como SAA3, haptoglobina (HP), proteína de ligação a lipopolissacarídeos. (LBP) e a citocina de imunidade adquirida IL-22. (Moré et al., 2019)

Além disso, animais resistentes mostraram genes relacionados com fatores de crescimento, arquitetura de células, quinases e cascata de coagulação. Nos animais suscetíveis, a maioria dos genes encontrados estão relacionados com apoptose, sinalização celular, angiogênese e remodelação tecidual. (Carvalho et al., 2014)

Assim, foi possível observar que animais taurinos geram maior resposta inata e inflamatória do que animais zebuínos, com maior expressão de genes, processos biológicos e vias metabólicas relacionadas com interleucinas, células TFN e interferon. Já os animais zebuínos apresentaram maiores expressões em genes relacionados com citocinas, células alérgicas, células ligantes e células receptoras. Isso demonstrou que os zebuínos geram uma resposta adaptativa e alérgica maior que em animais taurinos. Estas

observações podem estar relacionadas com a carga de carrapato que as raças apresentaram, sendo as maiores infestações encontradas nas raças taurinas, o que pode explicar a alta expressão de genes relacionados com resposta inflamatória.

## 7. Referências Bibliográficas

- Biegelmeyer, P. Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Archivos de Zootecnia*, v. 61, p. 1-11, 2012.
- Carvalho, W. A.; Ianella, P.; Arnoldi, F. G. C.; Caetano, A. R.; Maruyama, S. R.; Ferreira, B. R.; Conti, L. H. A.; Silva, M. R. M.; Paula, J. O. F.; Maia, A. A. M. e Santos, I. K. F. M. Haplotypes of the bovine IgG2 heavy gamma chain in tick-resistant and tick-susceptible breeds of cattle. 319-324. 2011.
- Carvalho, W. A.; Domingues, R.; Prata, M. C. A.; Silva, M. V. G. B.; Oliveira, G. C.; Guimarães, S. E. F. e Machado, M. A. Microarray analysis of tick-infested skin in resistant and susceptible cattle confirms the role of inflammatory pathways in immune activation and larval rejection. *Veterinary Parasitology*. 307-317. 2014.
- Domingues, R.; Wohlfres-Viana, S.; Reis, D. L. R.; Teixeira, H. C.; Ferreira, A. P.; Guimarães, S.E.F; Prata, M. C. A.; Furlong, J.; Verneque, R. S. e Machado, M. A. Expression of immune response genes in peripheral blood of cattle infested with *Rhipicephalus microplus*. *Genetics and Molecular Research*. 4013-4021. 2014.
- Franzin, A. M.; Maruyama, S. R.; Garcia, G. R.; Oliveira, R. P.; Ribeiro, J. M. C.; Bishop, R.; Maia, A. A. M.; Moré, D. D.; Ferreira, B. R. e Santos, I. K. F. M. Immune and biochemical responses in skin differ between bovine hosts genetically susceptible and resistant to the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasites and Vectors*. 2017.
- Frisch, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. *Int. J. Parasitol.* 29, 57–71, 1999.
- Grisi L. Prováveis prejuízos causados pelo carrapato. *A Hora Veterinária* 125, 2002.
- Kongsuwan, K.; Josh, P.; Colgrave, M. L.; Bagnall, N. H.; Gough, J.; Burns, B. e Pearson R. Activation of several key components of the epidermal differentiation pathway in cattle following infestation with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. 499-507. 2010.
- Jonsson, N. N.; Piper, E. K. and Constantinoiu, C. C. Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasite Immunol.* 36, 553–559, 2014.
- Marima, J. K.; Nel, C. L.; Marufu, M. C.; Jonsson, N. N.; Dube, B. e Dzama, K. A genetic and immunological comparison of tick-resistance in beef cattle following artificial infestation with *Rhipicephalus* ticks. *Exp. and Applied Acarology*. 569-590. 2020.
- Moré, D. D.; Cardoso, F. F.; Mudadu, M. A.; Magaló-Jr., W.; Gulias-Gomes, C. C.; Sollero, B. P.; Ibelli, A. M. G.; Coutinho, L. L. e Regitano, L. C. A. Network analysis uncovers putative genes affecting resistance to tick infestation in Braford cattle skin. *BMC Genomics*. 2019.
- Motta, R.R.; Silva, F. F.; Lopes, P.S.; Tempelman, R. J.; Sollero, B. P.; Aguilar I. e Cardoso, F.F. Analyses of reaction norms reveal new chromosome regions associated with tick resistance in cattle. *Animal*. 12:2, pp 205-214. 2018.

Piper, E. K.; Jackson, L. A.; Bagnall, N. H.; Kongswan, K. K.; Lew, A. E. e Jonsson, N. N. Gene expression in the skin of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. 110-119. 2008.

Prayaga, K. C., Corbet, N. J., Johnston, D. J., Wolcott, M. L., Fordyce, G., and Burrow, H. M. Genetics of adaptive traits in heifers and their relationship to growth, pubertal and carcass traits in two tropical beef cattle genotypes. *Anim. Prod. Sci.* 49, 413–425, 2009.

Siqueira, F.; Blecha, I. M. Z.; Machado, M. A.; Coutinho, L. L.. Uso de técnicas de biologia molecular em estudos de avaliação da resistência genética de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus microplus*. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo. Brasília, DF: Embrapa, p. 99-114, 2016.

Sollero, B. P.; Junqueira, V. S.; Gomes, C. C. G.; Caetano, A. R. e Cardoso, F. F. Tag SNP selection for prediction of tick resistance in Brazilian Braford and Hereford cattle breeds using Bayesian methods. *Genet. Sel. Evol.* 2017.

Veríssimo, C. J., Nicolau, C. V. J., Cardoso, V. L., and Pinheiro, M. G. Haircoat characteristics and tick infestation on Gyr (Zebu) and crossbred (Holstein × Gyr) cattle. *Arch. Zootech.* 51, 389–392, 2002.

## **8. Considerações finais da tese**

De acordo com os resultados de expressão gênica, animais taurinos geram maior resposta inata e inflamatória do que animais zebuínos. Já os animais zebuínos apresentaram maiores expressões em genes relacionados com citocinas, células alérgicas, células ligantes e células receptoras. Isso demonstrou que os zebuínos geram uma resposta adaptativa e alérgica maior que em animais taurinos. Estas observações podem estar relacionadas com a carga de carrapato que as raças apresentaram, sendo as maiores infestações encontradas nas raças taurinas. Também foi observada maior expressão de genes relacionados à estrutura da pele em zebuínos do que taurinos, o que sugere que animais resistentes possuem uma barreira física mais eficaz contra o carrapato.

Apesar dos estudos utilizarem diferentes desenhos experimentais, tempos de coleta, diferentes materiais biológicos, técnicas moleculares e análises estatísticas, os genes encontrados podem ser fortes candidatos para explicar o mecanismo de resistência e susceptibilidade em bovinos taurinos e zebuínos.

O uso da revisão sistemática como ferramenta de pesquisa se mostrou eficiente e muito segura para a obtenção de dados que podem ser utilizados em futuras pesquisas de validação de genes candidatos para resistência ao carrapato em bovinos de corte e leite, contribuindo com diversos programas de melhoramento genético animal.