



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Mestrado

RAYSSA DE QUEIROZ ARAÚJO

**IMPACTO DA SAZONALIDADE NA INFECÇÃO POR VERMES PULMONARES EM BOVINOS DA
AMAZÔNIA BRASILEIRA**

São Luís
2025

RAYSSA DE QUEIROZ ARAÚJO

**IMPACTO DA SAZONALIDADE NA INFECÇÃO POR VERMES PULMONARES EM BOVINOS DA
AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão,
como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências
da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Lívio Martins Costa Junior

Co-orientadora: Profa. Dra. Isabella Chaves Sousa

São Luís

2025

RAYSSA DE QUEIROZ ARAÚJO

**IMPACTO DA SAZONALIDADE NA INFECÇÃO POR VERMES PULMONARES EM BOVINOS DA
AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão,
como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Lívio Martins Costa Junior
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Guilherme Gomes Verocai
Texas A&M University

Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz
Universidade Federal do Maranhão

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Araújo, Rayssa de Queiroz.

IMPACTO DA SAZONALIDADE NA INFECÇÃO POR VERMES
PULMONARES EM BOVINOS DA AMAZÔNIA BRASILEIRA / Rayssa de
Queiroz Araújo, Juliana Rivas Figueredo Pereira, Ruth
Myrian de Moraes e Silva. - 2025.

45 p.

Coorientador(a) 1: Isabella Chaves Sousa.

Orientador(a): Livio Martins Costa-junior.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
Universidade Federal do Maranhão, 2025.

1. Dictyocaulus. 2. Lungworm. 3. Cattle. I. Costa-
junior, Livio Martins. II. Pereira, Juliana Rivas
Figueredo. III. Silva, Ruth Myrian de Moraes e. IV.
Sousa, Isabella Chaves. V. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, por ter tido paciência e entendido os meus momentos de reclusão e introspectividade.

Ao meu orientador, Lívio Martins Costa Junior, que entendeu meus interesses e possibilitou a criação deste trabalho.

A minha coorientadora Isabella Chaves Sousa, que me escutou e auxiliou em todas as etapas ao longo desses dois anos.

As minhas amigas, Ruth Myrian de Moraes e Silva e Juliana Rivas Figueredo Pereira, que estiveram comigo em todo o processo. Sem elas, sem a amizade delas, eu não teria conseguido suportar os grandes desafios que a pós graduação nos proporcionou. Obrigada, meninas, vocês são incríveis. Espero que nosso trio viva por muito tempo.

Agradeço imensamente, ao Laboratório de Controle de Parasitos (LCP), que me acolheu carinhosamente em 2019 e vem me ensinando de tudo um pouco nesses últimos anos.

Um agradecimento especial para ao grupo Carnaves, vocês não imaginam o quão importante foram para o meu crescimento científico e pessoal, muito obrigada.

Meu profundo obrigada aos meus amigos, meus pais, meus irmãos e todos que ouviram as minhas reclamações intermináveis, vocês foram incríveis.

RESUMO

As infecções por vermes pulmonares, principalmente causadas por espécies do gênero *Dictyocaulus*, afetam a saúde e a produtividade dos bovinos, contudo, sua epidemiologia em regiões tropicais ainda é pouco compreendida. Este estudo teve como objetivo avaliar a dinâmica sazonal da infecção por *Dictyocaulus* em bovinos da Amazônia Brasileira e investigar a influência ambiental na sua prevalência. Foi realizado um estudo longitudinal em uma fazenda de pecuária de corte, monitorando dois grupos de fêmeas Nelore não tratadas: Experimento 1 (16–18 meses de idade) e Experimento 2 (9–10 meses de idade). Amostras fecais foram analisadas utilizando a técnica de Baermann modificada, PCR multiplex e sequenciamento de nova geração (NGS). Dados climáticos foram registrados, e as análises estatísticas incluíram correlação de Spearman, teste exato de Fisher e cálculo da razão de chances (*odds ratio* – OR). Foi observado um forte efeito sazonal na infecção por *Dictyocaulus*. No Experimento 1, a prevalência foi inicialmente alta na estação seca (28,7%), mas diminuiu ao longo do tempo. No Experimento 2, a infecção foi significativamente maior na estação chuvosa (41,2%) em comparação com a estação seca (12,8%), com uma razão de chances (OR) de 4,78 (IC 95%: 2,74–8,63). A identificação molecular confirmou a presença de *Dictyocaulus* sp.; entretanto, a detecção de sequências adicionais ou a possibilidade de amplificação não específica levantam questões sobre a verdadeira identidade da espécie. A infecção por *Dictyocaulus* na Amazônia é fortemente influenciada pela sazonalidade, com a precipitação e a umidade favorecendo a transmissão. Animais mais jovens apresentaram maior suscetibilidade, destacando o papel do desenvolvimento imunológico na resistência ao parasita. Esses achados ressaltam a necessidade de estratégias de controle parasitário adaptadas para regiões tropicais. Pesquisas adicionais utilizando ferramentas moleculares específicas para a espécie são essenciais para aprimorar a identificação taxonômica e melhorar as práticas de manejo.

Palavras-chave: *Dictyocaulus*, verme pulmonar, sazonalidade, bovinos, epidemiologia, Amazônia.

ABSTRACT

Lungworm infections, primarily caused by *Dictyocaulus* species, impact cattle health and productivity, yet their epidemiology in tropical regions remains poorly understood. This study aimed to evaluate the seasonal dynamics of *Dictyocaulus* infection in cattle from the Brazilian Amazon and assess environmental influences on prevalence. A longitudinal study was conducted on a beef cattle farm, monitoring two groups of untreated Nelore females: Experiment 1 (16–18 months old) and Experiment 2 (9–10 months old). Fecal samples were analyzed using the modified Baermann technique, multiplex PCR, and next-generation sequencing (NGS). Climatic data were recorded, and statistical analyses included Spearman's correlation, Fisher's exact test, and odds ratio (OR) calculations. A strong seasonal effect on *Dictyocaulus* infection was observed. In Experiment 1, prevalence was initially high in the dry season (28.7%) but declined, while in Experiment 2, it was significantly higher in the rainy season (41.2%) than in the dry season (12.8%), with an OR of 4.78 (95% CI: 2.74–8.63). Molecular identification confirmed the presence of *Dictyocaulus* sp. however, the detection of additional sequences or the possibility of nonspecific amplification raises questions about the true identity of the species. *Dictyocaulus* infection in the Amazon is strongly influenced by seasonality, with precipitation and humidity favoring transmission. Younger animals exhibited higher susceptibility, highlighting the role of immune development. These findings emphasize the need for tailored parasite control strategies in tropical regions. Further research utilizing species-specific molecular tools is essential to refine taxonomic identification and improve management practices.

Keywords: *Dictyocaulus*, lungworm, seasonality, cattle, epidemiology, Amazon

LISTA DE SIGLA E ABREVIATURAS

bp - base pairs (pares de bases)

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DRB - Doença Respiratória Bovina

L1, L2, L3 - Estágios larvais de *Dictyocaulus* spp.

LPG - Larvas por Grama de fezes

MiSeq - Sistema de sequenciamento da Illumina

NGS - *Next-Generation Sequencing* (Sequenciamento de Nova Geração)

OR - *Odds Ratio* (Razão de Chances)

p-value - Valor de p (significância estatística)

PCR - *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase)

SSU - *Small Subunit* (Subunidade Pequena, referente ao RNA ribossomal)

TRMM - *Tropical Rainfall Measuring Mission* (Missão de Medição de Chuvas Tropicais)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Ciclo de biológico de *Dictyocaulus viviparus*.....17
- Figura 2** - Precipitação total (mm) por mês e temperatura média (°C) durante todo o período experimental. As áreas sombreadas indicam a estação seca (bege) e a estação chuvosa (azul).....23
- Figura 3.** Prevalência (A) e excreção de larvas por grama de fezes (B) de *Dictyocaulus viviparus* em animais do Experimento 1 (16-18 meses de idade, linha preta sólida) e animais do Experimento 2 (9-10 meses de idade, linha vermelha tracejada) ao longo do tempo. As áreas sombreadas indicam a estação seca (bege) e a estação chuvosa (azul).....24
- Figura 4.** Associação entre prevalência de infecção e variação sazonal em bovinos do Experimento 1 (animais de 16-18 meses de idade) (A), Experimento 2 (animais de 9-10 meses de idade) (B) e agregados dos dois experimentos (C).....26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO	
2.1 Vermes pulmonares	
2.2 <i>Dictyocaulus</i> spp: Principais espécies e impacto nos hospedeiros	
2.3 Condições climáticas.....	
2.4 Distribuição e prevalência do gênero <i>Dictyocaulus</i> no Brasil	
2.5 Diagnóstico molecular e caracterização genética de nematoides	
3. OBJETIVOS.....	
3.1 Objetivo geral	
3.2 Objetivos específicos	
4. MATERIAL E MÉTODOS	
4.1 Local do estudo	
4.2 Dados climáticos	
4.3 Desenho do estudo	
4.4 Experimento 1.....	
4.5 Experimento 2.....	
4.6 Análises parasitológicas.....	
4.7 Análise molecular.....	
4.7.1 Extração do DNA.....	
4.7.2 PCR Multiplex.....	
4.7.3 Sequenciamento de Nova Geração.....	
4.8 Análise estatística.....	
6 RESULTADO	
6 DISCUSSÃO.....	
7 CONCLUSÃO.....	
8 REFERÊNCIAS.....	

1. INTRODUÇÃO

Os vermes pulmonares são uma preocupação significativa na pecuária bovina, pois podem causar doenças respiratórias graves, resultando em perdas econômicas devido à redução da produtividade, aumento dos custos veterinários e, em casos severos, mortalidade (Strydom et al., 2023). Dentre esses parasitas, os nematódeos da família *Dictyocaulidae* são os mais relevantes, sendo *Dictyocaulus* sp. o principal agente etiológico da bronquite parasitária bovina (Panciera e Confer, 2010).

Embora a infecção por *Dictyocaulus* seja predominantemente associada a regiões temperadas e úmidas, casos esporádicos já foram relatados em países tropicais, sugerindo um potencial adaptação do parasita a novas condições ecológicas (Lat-Lat et al., 2007; Jiménez et al., 2007; Macedo et al., 2022). No Brasil, o parasita está bem documentado nas regiões Sudeste e Sul, especialmente abaixo do paralelo 20°S. No entanto, apenas dois relatos foram registrados em áreas de clima equatorial, havendo lacunas significativas no entendimento da sua epidemiologia local (Busetti et al., 1983; Macedo, 2022).

A Amazônia Brasileira, que representa aproximadamente 50% do território nacional, está majoritariamente situada abaixo da latitude 20°S e abriga 43% do rebanho bovino nacional, estimado em mais de 100 milhões de animais (IBGE, 2023). Apesar disso, as informações sobre a ocorrência de *Dictyocaulus* sp. em bovinos da região amazônica são escassas, limitadas a relatos não publicados e um único estudo realizado na década de 1980 (Busetti et al., 1983). Essa lacuna ressalta a necessidade urgente de investigações atualizadas sobre a presença e dinâmica da *dictyocaulose* bovina em regiões tropicais.

A disseminação de *Dictyocaulus* sp. é facilitada por fatores como manejo inadequado e condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento e sobrevivência das larvas infectantes. Além disso, a imunidade protetora nos bovinos depende da exposição contínua ao nematódeo, tornando animais jovens ou rebanhos provenientes de áreas livres do parasita mais suscetíveis à infecção (Schade, 2020; Ploeger, 2002).

Nas últimas décadas, surtos de *Dictyocaulus* sp. tornaram-se cada vez mais imprevisíveis, frequentemente associados a mudanças climáticas e variações nos sistemas de manejo (McCarthy, 2022). Esse cenário ressalta a importância de estudos epidemiológicos em diferentes biomas, a fim de identificar padrões de infecção e subsidiar estratégias regionais de controle. Assim, o presente estudo teve como objetivo analisar a epidemiologia de *Dictyocaulus* sp. em bovinos de uma região tropical da Amazônia

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Vermes pulmonares

Os vermes pulmonares são parasitos que acometem o trato respiratório de animais domésticos e selvagens em todo o mundo, causando impacto tanto na saúde animal quanto na economia agrícola (Bezerra-Santos et al., 2020). Esses parasitos, pertencentes a diferentes espécies de nematoides, podem induzir uma ampla variedade de lesões no trato respiratório, variando de bronquite leve a pneumonias severas que, em casos extremos, resultam na morte dos animais infectados (Panayotova-Pencheva, 2010). As consequências da infecção incluem, além das lesões diretas, prejuízos econômicos consideráveis devido à diminuição na taxa de crescimento e aumento da mortalidade nos rebanhos (Macedo, 2022). Diversos estudos científicos que abordam o impacto econômico das verminoses pulmonares em bovinos, destacam perdas significativas na produção de leite e carne. Por exemplo, Grisi et al (2014) estimou que as perdas anuais devido a verminoses no Brasil chegam a US\$ 7,11 bilhões, com a morte de aproximadamente 10 milhões de bovinos e búfalos anualmente em decorrência direta ou indireta desses parasitos.

Além disso, a Doença Respiratória Bovina (DRB), frequentemente associada a infecções por vermes pulmonares como *D. viviparus*, é responsável por perdas significativas, incluindo mortalidade de bezerros, redução no ganho de peso e aumento nos custos de tratamento. Estudos indicam que a DRB pode resultar em perdas de até 32,7% na produção de bezerros e 16% de mortalidade adicional em fazendas leiteiras (Peel, 2020)

Dentre as espécies mais frequentemente relatadas estão que infectam ruminantes como bovinos, ovinos e caprinos, destacando-se pela diversidade de hospedeiros e abrangência geográfica. Nos bovinos, o *D. viviparus* é especialmente prevalente durante a temporada de pastagem, com os animais mais jovens sendo os mais suscetíveis às formas graves da doença, devido à menor imunidade adquirida e à exposição inicial às larvas infectantes (Panuska, 2006). No terceiro estágio larval, após ser ingerida pelo hospedeiro, as larvas migram para os pulmões através da circulação sanguínea. Em alguns casos, pode ocorrer a migração para os pulmões e outros órgãos como fígado e linfonodos. A infecção também depende da ingestão direta de fezes

contaminadas ou pela contaminação ambiental por fungos, como o *Pilobolus*, que transporta as larvas para distâncias maiores (Jørgensen, 1982). O diagnóstico dessas infecções muitas vezes representa um desafio, já que a diferenciação das larvas de vermes pulmonares exige análise detalhada da extremidade posterior e mensuração das estruturas, que requerem experiência e equipamentos adequados (Kafle et al., 2015).

Recentemente, foi observada uma crescente resistência aos tratamentos convencionais, principalmente em áreas onde o uso de anti-helmínticos não é bem controlado. Essa resistência agrava ainda mais o impacto econômico e sanitário da parasitose, já que a eficácia dos tratamentos tradicionais diminui. Nesse contexto, as estratégias de manejo integrado, que combinam controle ambiental com tratamentos biológicos e o uso de vacinas, estão sendo discutidas como alternativas sustentáveis para minimizar os impactos econômicos da infecção (Ferreira et al., 2023).

Além disso, diversos fatores ambientais exercem influência direta na prevalência e distribuição dos vermes pulmonares, como condições climáticas adversas, níveis de precipitação, umidade relativa do ar e práticas de manejo adotadas nas fazendas. Esses fatores determinam não apenas a sobrevivência das larvas no ambiente, mas também a exposição e suscetibilidade dos hospedeiros (Samadi et al., 2019). Tais aspectos reforçam a necessidade de estratégias integradas de manejo, que combinem controle ambiental e medidas de saúde preventiva, para suavizar os impactos negativos dessa parasitose.

2.2 *Dictyocaulus* spp: Principais espécies e impactos nos hospedeiros

Dictyocaulus pertence à classe Nematoda, superfamília *Trichostrongyloidea* e família *Dictyocaulidae*, sendo conhecido por parasitar animais domésticos e selvagens, com a capacidade de ser encontrado em múltiplos hospedeiros (Pyziel, 2014). As principais espécies são *Dictyocaulus viviparus*, *Dictyocaulus filaria*, *Dictyocaulus arnfieldi*, *Dictyocaulus capreolus* e *Dictyocaulus eckerti* (Johnson, 2003; Filip-Hutsch, 2020). A espécie *D. viviparus*, conhecida por parasitar os brônquios de bovinos e bubalinos, é a mais estudada e potencialmente patogênica entre os helmintos da família *Dictyocaulidae* (Rodrigues, 2016). Esse parasita é o agente etiológico da dictiocaulose bovina, uma verminose pulmonar que afeta principalmente bezerros com até um ano de idade, causando prejuízos significativos à saúde do rebanho. A infecção compromete o sistema respiratório dos animais, levando à perda de peso, atraso no

desenvolvimento e aumento nos custos de produção devido à necessidade de tratamentos com medicamentos para controle da doença (Schade, 2020).

Os parasitos da família *Dictyocaulidae* caracterizam-se por ter corpo filiforme e esbranquiçado, orifício oral circundado por quatro pequenos lábios e cápsula bucal pequena. A fêmea tem vulva próxima à metade posterior do corpo. O macho possui bolsa copuladora pequena e arredondada, espículos curtos com apêndices afastados e gubernáculo presente (Shite et al., 2015). O nematoide *D. filaria*, agente etiológico responsável por causar dictiocaulose em ovinos e caprinos, somente apresenta manifestação clínica evidente em casos de alta infecção (Hernández-Serratos; Díaz-Sánchez, 2022). Entre as duas espécies, os ovinos possuem os maiores percentuais de infestação pelo parasita em comparação com os caprinos, devido ao hábito da espécie de pastejar rente ao solo, o que facilita o contato com as larvas infectantes (De Quadros, 2010).

Nos equídeos, a pneumonia verminótica é causada pelo nematódeo *D. arnfieldi*. No entanto, não há sinais clínicos evidentes devido à baixa patogenicidade da espécie (Shite et al., 2015). Entre as espécies hospedeiras, os asininos são os principais portadores da enfermidade, podendo estar persistentemente infectados por toda a vida, o que facilita a disseminação do parasita. No caso da espécie equina, o grupo de risco são os potros, por apresentarem imunidade ineficiente contra as larvas do parasita (Radostits et al., 2010). Em cervídeos, algumas espécies de *Dictyocaulus* apresentam uma maior especificidade. O verme pulmonar de cervídeos, *D. cervi*, é encontrado apenas em veados vermelhos, enquanto *D. eckerti* parasita cervos selvagens em países da Europa e Oceania (Oyarzún-Ruiz, 2018; Bangoura, 2021). Em alces e corças, a parasitose pulmonar causada por *D. capreolus* afeta negativamente a saúde desses animais, apresentando sintomas como inflamação do trato respiratório, diarreia e anorexia (Gibbons, 2002; Horcajada-Sánchez, 2019).

O desenvolvimento dos estágios larvais e as possibilidades de transmissão das espécies de *Dictyocaulus* são diretamente influenciadas pela distribuição geográfica dos parasitos e pelas condições ambientais (Macedo, 2021). No inverno, as larvas não permanecem por muito tempo no ambiente, sendo este o momento em que o parasita costuma se acomodar no animal (Holzhauer, 2011). As larvas de vida livre necessitam de umidade, e à medida que a temperatura aumenta, elas sofrem desidratação e não sobrevivem no ambiente. A temperatura ideal para que as larvas possam se desenvolver no pasto varia entre

22°C e 26°C (Pimentel Neto, 2002). Estudos de prevalência mostram que a *Dictyocaulosis* em bovinos e ovinos é mais comum durante a temporada de pastagem, quando as larvas infectantes estão presentes em maior quantidade nas pastagens (Furlong, 1985).

A afecção respiratória causada por *Dictyocaulus* spp. também pode afetar animais adultos. Quando esses animais já foram expostos ao parasita em fases anteriores da vida e são novamente desafiados por uma alta carga parasitária, ocorre uma resposta inflamatória excessiva nos pulmões. Nesse caso, os nódulos linfoides se agrupam ao redor dos vermes mortos, resultando em alterações na função respiratória do animal. Essa condição clínica é conhecida como síndrome de reinfecção (Smith, 2006). Os sintomas clínicos de infecção por *Dictyocaulus* incluem tosse crônica, secreção nasal, dificuldade respiratória e, em casos mais graves, insuficiência respiratória. Em bovinos, a infecção pode ser mais severa em bezerros com menos de um ano devido à falta de imunidade adquirida (Silva, 2005).

2.3 Condições climáticas

O Brasil apresenta uma ampla diversidade climática por todo seu território, sendo diretamente influenciado por diferentes fatores geográficos. O clima equatorial cobre grande parte do país, incluindo principalmente a região da floresta amazônica, onde a precipitação e temperatura são muito altas. As características do clima tropical variam de acordo com a região, apresentando temperaturas elevadas e menor quantidade de chuva. Já o clima temperado, é predominante no sul do país, onde durante o inverno, as temperaturas podem cair abaixo de zero grau e ocorrer a presença de neve (Cavalcanti, 2016; IBGE, 2023). Com relação a região Nordeste do Brasil, são encontrados três tipos de climas: tropical, semi-árido e equatorial úmido.

O clima tropical é marcado por temperaturas elevadas e a presença de duas estações distintas: uma estação seca e uma estação chuvosa. Os níveis anuais de precipitação variam de 1.800 a 2.000 mm, e temperaturas geralmente oscilam entre 24°C e 26°. O semi-árido brasileiro apresenta temperaturas elevadas e chuvas irregulares, essa característica climática resulta em áreas secas devido aos longos períodos de estiagem, enquanto em outras regiões há uma prevalência de alta umidade relativa do ar, além disso, demonstra elevadas temperaturas com chuvas regulares durante todo o ano (Farias, 2018; Gomes, 2019). Devido as variações

climáticas como pluviosidade, umidade e temperatura presente nas diferentes regiões do Brasil, há uma heterogeneidade na distribuição do gênero *Dictyocaulus* e essas diferenças contribuem para a variabilidade e incidência das espécies pelo país (Valente et al., 2020).

A umidade relativa do ar e a temperatura são fatores essenciais para a sobrevivência das larvas de *Dictyocaulus*. Em regiões de clima tropical, a alta umidade favorece o desenvolvimento larval, enquanto em climas mais secos e frios sua sobrevivência tende a ser reduzida (De Almeida, 2020). Em áreas com temperatura média anual acima de 22°C, as larvas de *Dictyocaulus* podem se desenvolver rapidamente, tornando-se infectantes em menos de três semanas. Por outro lado, em regiões mais frias, o tempo necessário para que alcancem a infectividade é maior (Pimentel Neto, 2002).

A relação entre mudanças climáticas e a potencial expansão geográfica de *Dictyocaulus* é um campo de estudo emergente. Embora ainda não existam investigações específicas sobre essa interação, pesquisas correlatas fornecem insights relevantes. Um exemplo é o estudo de Silva (2018) sobre *Ilex paraguariensis*, que sugere que as mudanças climáticas podem reduzir significativamente sua área de adequabilidade climática, impactando especialmente regiões periféricas e de menor altitude.

2.4 Distribuição e prevalência do gênero *Dictyocaulus* no Brasil

No Brasil, o gênero *Dictyocaulus* está presente e compreende diferentes espécies de nematódeos parasitos que afetam tanto animais domésticos quanto selvagens. Essas diferentes espécies podem ser encontradas em uma variedade de hospedeiros, como bovinos, caprinos e ovinos. A maioria dos relatos de infecção por *D. viviparus* são nas regiões sul e sudeste do país (Silva, 2005; Shade, 2020), sendo o diagnóstico foi feito através da presença de vermes adultos na necropsia (Macedo, 2022).

Existem poucos casos publicados sobre esse parasitos no Norte e Nordeste, embora há pesquisadores da região relatando casos clínicos de doença respiratória por nematódeos pulmonares em bovinos (Macedo, 2021). O desenvolvimento dos estágios larvais e as possibilidades de transmissão das espécies de *Dictyocaulus* são diretamente influenciadas pela distribuição geográfica dos parasitos e pelas condições ambientais (Macedo, 2021). As espécies de *Dictyocaulus* tem um ciclo de vida direto, iniciando quando os animais ingerem as larvas infectantes (L3) presentes no ambiente. Essas larvas irão migrar para os pulmões,

onde chegarão a adultos e se fixarão na parede dos brônquios e bronquíolos do hospedeiro. As fêmeas produzirão ovos larvados (L1) que serão eliminados nas vias respiratórias (L2) e nas fezes dos animais infectados. O ciclo reinicia quando as larvas presentes no ambiente são ingeridas por outros animais herbívoros. Em alguns casos, as larvas podem migrar do material fecal para o pasto e utilizam a esporulação do fungo do gênero *Pilobolus* para se deslocarem para áreas mais distantes, logo contribuindo para disseminação (Jorgensen et al., 1982).

A técnica de Baermann é o principal método utilizado para o diagnóstico de nematódeos pulmonares em ruminantes, se baseia na migração larvar ativa, seguida de sedimentação para a recuperação e identificação morfológica das larvas nas fezes (Verocai et al., 2020). No entanto, a técnica é sensível a larvas de primeiro estágio (L1).

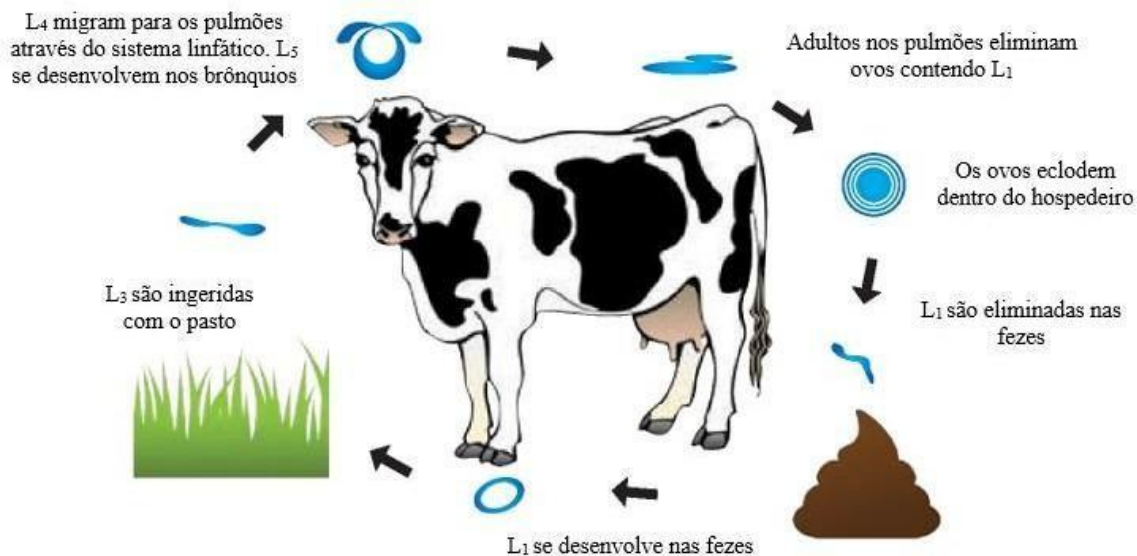


Figura 1: Ciclo de biológico de *Dictyocaulus viviparus*. Fonte: Sargison, 2016

2.5 Diagnóstico molecular e caracterização genética de *Dictyocaulus*

O diagnóstico preciso desses parasitos é essencial para o controle e para o desenvolvimento de estratégias preventivas. Desta forma, o diagnóstico molecular é uma ferramenta essencial para a pesquisa sobre parasitas de bovinos (Costa Junior, 2021). Testes moleculares podem ser utilizados para identificar diferentes espécies de nematódeos, superando as limitações de testes tradicionais como exames coproparasitológicos, morfológicos e técnicas de necropsia. A caracterização molecular é capaz de

diferenciar entre genótipos de diferentes espécies de *Dictyocaulus*, além de indicar as espécies prevalentes nas regiões estudadas, e pode revelar informações sobre a diversidade genética do parasito, impedindo graves consequências ecológicas e econômicas (Pyziel, 2015). Além disso, os testes moleculares possibilitam a identificação simultânea de diferentes espécies de parasitos, agilizando o processo de diagnóstico e proporcionando uma visão abrangente da carga parasitária dos animais infectados (Haas; Torres, 2016).

Avanços em técnicas moleculares, como o PCR em tempo real (qPCR), têm se mostrado úteis na quantificação da carga parasitária e na detecção precoce de infecções, mesmo em casos subclínicos (Marcelino, 2020). Isso facilita a implementação de programas de controle mais eficientes, evitando o uso excessivo de medicamentos e contribuindo para o manejo sustentável do rebanho. Além disso, estudos demonstraram que diferentes populações de *D. viviparus* podem exibir variações genéticas significativas, influenciando a virulência do parasita, sua capacidade de adaptação a diferentes ambientes e resistência a tratamentos (Pyziel, 2023). O sequenciamento de nova geração (NGS) tem sido uma ferramenta poderosa para caracterizar as variantes genéticas de *Dictyocaulus*, permitindo uma análise mais abrangente do genoma do parasita, a identificação de novas cepas e espécies, e o estudo de genes relacionados à virulência e à resistência a tratamentos (Mcnulty, 2016.).

Embora as técnicas moleculares como o PCR e o sequenciamento de DNA sejam extremamente precisas, elas exigem equipamentos especializados e expertise em bioinformática para analisar os dados. Esses desafios podem limitar o uso dessas técnicas em regiões com poucos recursos, destacando a necessidade de métodos complementares, como a serologia, para um diagnóstico mais amplo (Maljkovic Berry, 2020.). A extração de DNA é uma etapa essencial na identificação molecular de nematódeos, realizado por meio de kits comerciais de extração ou protocolos de extração de DNA fenol- clorofórmio. A partir dessa etapa, se iniciam as técnicas de amplificação do DNA alvo, processo de reação da cadeia da polimerase (PCR), utilizada para amplificar regiões específicas do DNA; Sequenciamento de DNA, o sequenciamento é utilizado para determinar as sequências dos nucleotídeos identificados na PCR, e por último, a análise do material sequenciado, que pode ser feito por ferramentas de bioinformática, comparando os resultados em bancos de dados disponíveis, como o GenBank (Farfán, 2015; Haas; Torres,

2016).

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a epidemiologia de *Dictyocaulus* sp. em bovinos de uma região tropical da Amazônia Brasileira.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Determinar a prevalência da infecção por *Dictyocaulus* em bovinos de diferentes faixas etárias ao longo das estações seca e chuvosa;
- Analisar a correlação entre variáveis climáticas (precipitação, temperatura, umidade) e a taxa de infecção dos bovinos;
- Identificar molecularmente as espécies de *Dictyocaulus* presentes nos bovinos estudados.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local do estudo

O estudo foi conduzido em uma fazenda de pecuária de corte localizada no município de Buriticupu (3°43'41.2"S e 45°16'20.6"W), no estado do Maranhão, Brasil. A fazenda cobre uma área total de aproximadamente 20.000 hectares, com cerca de 50% das terras aráveis destinadas à integração lavoura-pecuária, envolvendo o cultivo de milho durante a estação chuvosa e a utilização de pastagens durante a estação seca. O rebanho bovino é composto por 13.500 animais da raça Nelore, abrangendo as fases de reprodução, crescimento e terminação.

Situada na região Amazônica, a fazenda é caracterizada por um clima tropical quente e úmido. A estação chuvosa ocorre de janeiro a junho, com meses de transição entre a estação seca e chuvosa de dezembro a janeiro.

4.2 Dados climáticos

Os dados climáticos foram obtidos no site www.agritempo.gov.br, que fornece variáveis meteorológicas da estação TRMM 8645, localizada no município de Buriticupu, Maranhão (4.5° S, 46.5° W), aproximadamente 40 km do local experimental. Os meses foram classificados como pertencentes à

estação seca quando a precipitação total (mm) foi inferior a 30 mm.

4.3 Desenho do estudo

Este estudo monitorou dois grupos de fêmeas Nelore, alojadas na mesma fazenda sob diferentes faixas etárias e períodos de observação. Os grupos foram designados como Experimento 1 e Experimento 2, permitindo uma análise comparativa da dinâmica de infecção por *Dictyocaulus* sp. Nenhum dos animais recebeu tratamento antiparasitário nos últimos seis meses

4.4 Experimento 1

O primeiro grupo consistiu em 102 fêmeas Nelore, com idades entre 16 e 18 meses, mantidas em um piquete de 103 hectares com monocultivo da gramínea *Brachiaria brizantha* MG5. O período de monitoramento se estendeu de junho de 2022 a agosto de 2023, totalizando 410 dias de observação.

No primeiro dia do experimento (D0), amostras de fezes foram coletadas de todos os 102 animais. Subsequentemente, amostras fecais recém-excretadas foram coletadas aleatoriamente de 30 animais em intervalos médios de 29 dias, resultando em um total de 14 eventos de amostragem ao longo do estudo. Nenhum dos animais havia recebido tratamento antiparasitário nos últimos seis meses.

4.5 Experimento 2

O segundo grupo consistiu em 87 fêmeas Nelore desmamadas, com idades entre 9 e 10 meses, alojadas em um piquete de 101 hectares também com *B. brizantha* MG5. O monitoramento ocorreu de dezembro de 2022 a agosto de 2023, abrangendo 240 dias de observação. Os animais nunca haviam recebido tratamento antiparasitário.

No primeiro dia do experimento (D0), amostras fecais foram coletadas de todos os 87 animais. Subsequentemente, amostras fecais recém-excretadas foram coletadas aleatoriamente de 30 animais em intervalos médios de 18 dias, resultando em um total de 13 eventos de amostragem ao longo do estudo.

4.6 Análises parasitológicas

As amostras fecais foram armazenadas a 4°C e transportadas para o laboratório para análise. Cada amostra foi processada individualmente utilizando a técnica de Baermann modificada, conforme descrito por Forrester & Lankester (1977) e Verocai et al. (2020), com 20 g de fezes por análise. Inicialmente, as fezes foram suspensas em peneiras envolvidas por gaze, que foram então submersas em béqueres contendo água destilada e mantidas a 16°C por 24 horas. Após a sedimentação, as larvas foram cuidadosamente coletadas e examinadas em microscópio óptico com ampliação de 400x. As larvas identificadas foram analisadas com base em características morfológicas, incluindo comprimento do corpo, morfologia da cabeça e cauda, e presença de grânulos intestinais (Panuska, 2006). A porcentagem de animais positivos para *Dictyocaulus* em cada evento de amostragem foi calculada para ambos os grupos experimentais.

4.7 Análise molecular

4.7.1 Extração do DNA

Pools contendo aproximadamente 100 larvas, derivadas de diferentes animais dentro do mesmo grupo experimental e coleta, foram preparados para análise molecular. A extração do DNA genômico seguiu o protocolo descrito por Costa-Junior et al. (2021).

4.7.2 PCR Multiplex

A PCR Multiplex foi realizada utilizando três primers específicos para *D. viviparus* (5'-GCTAATGTTCTTAATCGTTGATC-3'), *D. eckerti* (5'-CTATATGGAAATGATGATGATTACCGT-3'), e *D. capreolus* (5'-CGAGATACATGTCATATCGA-3'), além de um primer reverso comum (5'-CACAGTACTTGTGTTTGCA-3') para todas as espécies (Pyziel et al., 2015).

O tamanho esperado dos produtos de PCR para *D. viviparus*, *D. eckerti*, *Dictyocaulus* sp. e *D. capreolus*, respectivamente, foi, em pares de bases (pb), 554, 714, 654 e 393.

A amplificação por PCR multiplex foi realizada de acordo com Pyziel et al. (2015), com modificações, utilizando um termociclador Bioer Life Touch, em um volume total de 25 µl, contendo 5 µl de GoTaq Flexi Buffer, 2 µl de MgCl₂, 0,5 µl de dNTP, 1 µl de cada primer a 20 pM/µl, 0,2 µl de GoTaq DNA Polymerase (Promega) e 1 µl de DNA molde. O perfil térmico consistiu em uma desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos, seguida por 40 ciclos de desnaturação por 30 segundos, anelamento dos primers a 55 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos, com uma elongação final.

O produto de PCR foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 1%. Um total de 10 µL da reação de PCR foi utilizado, e as amostras foram coradas com GelRed e visualizadas sob luz ultravioleta. Um marcador de peso molecular DNA Ladder de 100 pb (Promega) foi utilizado.

4.7.3 Sequenciamento de Nova Geração (NGS)

O sequenciamento foi realizado utilizando o sequenciador Illumina MiSeq, com um kit de reagentes de 500 ciclos (MiSeq Reagent Kits v2, MS-103-2003) a uma concentração de 15 nM, adicionando 15% de Phix Control v3 (Illumina, FC-11-2003) como controle interno de qualidade. Os arquivos de sequência FASTQ foram analisados utilizando um pipeline personalizado, empregando o software Mothur v.1.39.5 (Schloss et al., 2009), seguindo o procedimento operacional padrão para a plataforma Illumina MiSeq, conforme descrito por Kozich et al. (2013), com modificações na linha de comando descritas por Avramenko et al. (2015).

4.8 Análise estatística

Para avaliar a associação entre tempo experimental e porcentagem de animais positivos e a média de larvas por grama de fezes (LPG) em cada coleta, foi aplicado o teste de correlação de Spearman. Para comparar a prevalência da infecção entre as estações seca e chuvosa, os dados foram agrupados e analisados separadamente para cada experimento e também combinados. A comparação da prevalência entre os períodos foi realizada utilizando o teste exato de Fisher, dado o caráter categórico das variáveis. Além disso, foram calculadas a razão de chances (Odds Ratio – OR) e seu intervalo de confiança de 95% (IC 95%). O nível de significância foi estabelecido em $\alpha=0,05$, considerando p-valores inferiores a 0,05 como estatisticamente significativos. Todas as análises estatísticas foram conduzidas no software GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

5. RESULTADO

5.1 Caracterização climática

As condições climáticas durante o período experimental mostraram uma clara distinção entre as estações seca e chuvosa (Figura 2). Os níveis de precipitação permaneceram consistentemente baixos durante a estação seca, com valores abaixo de 30 mm, enquanto um aumento acentuado foi observado no

início da estação chuvosa, atingindo aproximadamente 570 mm no mês. Após esse pico, a precipitação diminuiu gradualmente, marcando a transição de volta para a estação seca.

A temperatura média permaneceu relativamente estável ao longo do período de estudo, variando entre 26°C e 28°C, com pequenas variações entre as estações. Enquanto a precipitação flutuava marcadamente, a temperatura não apresentou variações significativas, mantendo um padrão quase consistente ao longo da linha do tempo experimental.

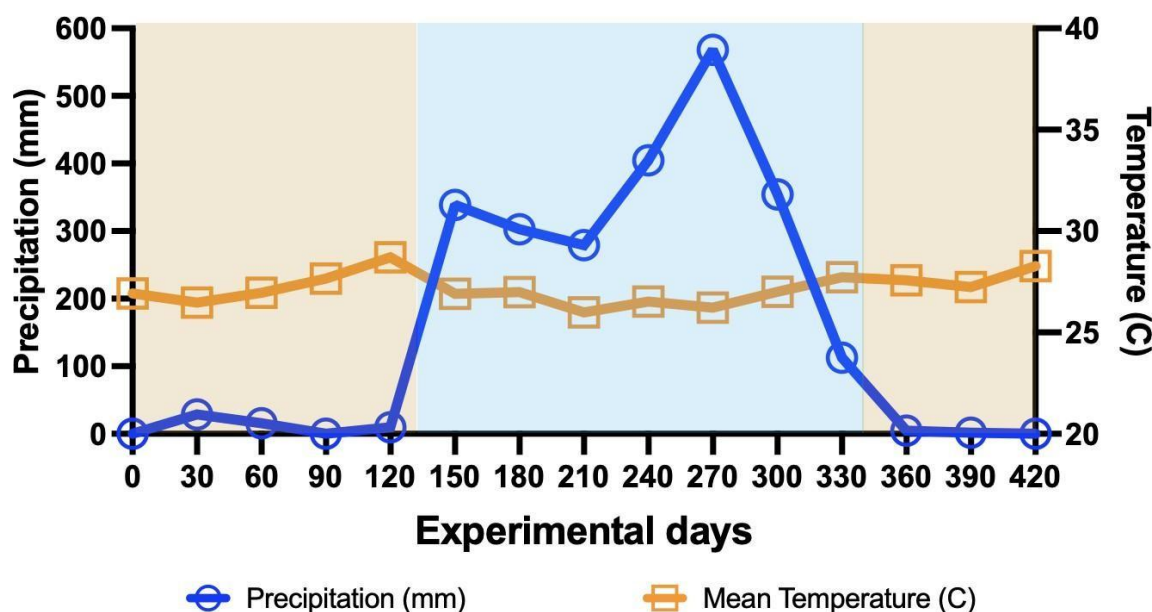


Figura 2. Precipitação total (mm) por mês e temperatura média (°C) durante todo o período experimental. As áreas sombreadas indicam a estação seca (bege) e a estação chuvosa (azul).

5.2 Identificação molecular

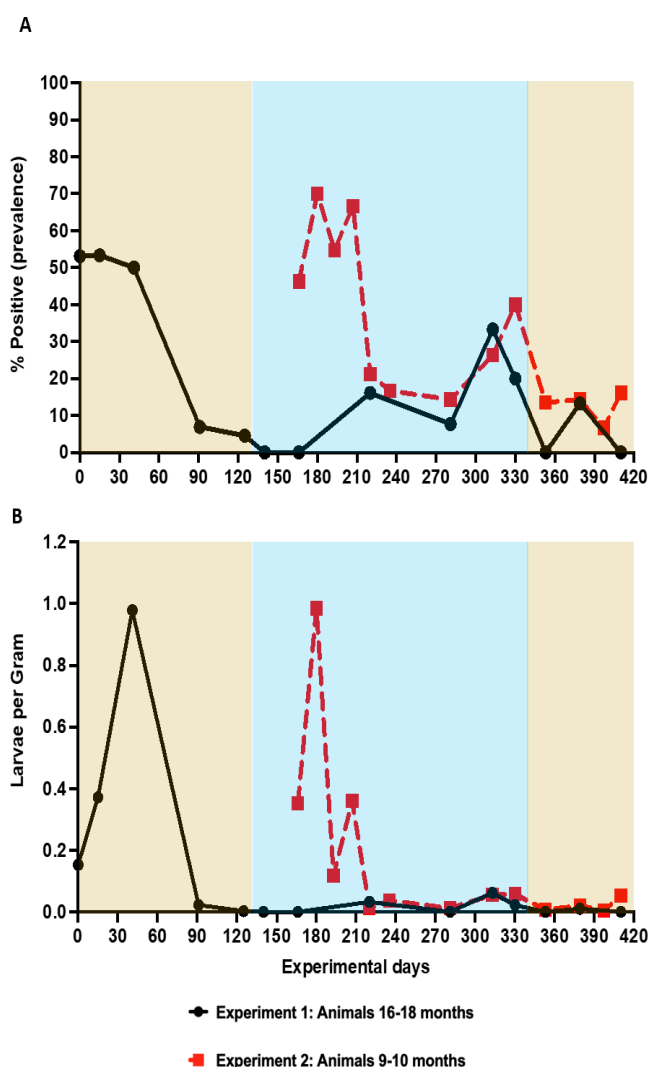
A PCR multiplex amplificou um fragmento de aproximadamente 400 pares de bases (pb) compatível com *Dictyocaulus capreolus*. Enquanto isso, o sequenciamento de próxima geração (NGS) identificou uma predominância de *D. viviparus*, que representou 25,8% das leituras totais. Além disso, 21,5%, 18,1%, 17,6% e 16,9% das leituras corresponderam a *D. filaria*, *D. eckerti*, *D. capreolus* e *D. cervi*, respectivamente.

Dada essa distribuição e a ausência de confirmação definitiva no nível da espécie, não foi possível determinar precisamente as espécies de *Dictyocaulus* envolvidas. Portanto, neste estudo, nos referimos coletivamente aos vermes pulmonares detectados como *Dictyocaulus sp.*

5.3 Dinâmica da Infecção

No início do experimento, a prevalência e as larvas por grama de fezes (LPG) foram semelhantes em ambos os grupos experimentais (Figura 3 A e B). No Experimento 1 (animais de 16 a 18 meses de idade), a prevalência foi inicialmente alta, pois o experimento começou durante a estação seca (Figura 3 A). No entanto, é importante notar que a temperatura ainda estava relativamente baixa, provavelmente devido à influência residual da estação chuvosa anterior, e a umidade permaneceu alta (dados não mostrados). À medida que a estação seca progrediu, a prevalência nos animais do Grupo 1 diminuiu gradualmente, atingindo níveis próximos de zero. Durante a estação chuvosa, observou-se um ligeiro aumento na prevalência, na fase intermediária para final, mas o LPG permaneceu consistentemente baixo, sugerindo uma infecção parasitária limitada (Figura 3 B).

Uma tendência semelhante foi observada no Experimento 2 (animais de 9 a 10 meses de idade). Embora a prevalência tenha aumentado durante a estação chuvosa, o número de larvas por grama de fezes permaneceu baixo, reforçando o padrão observado nos animais mais velhos.



CAPÍTULO 1 -

Figura 3. Prevalência (A) e excreção de larvas por grama de fezes (B) de *Dictyocaulus viviparus* em animais do Experimento 1 (16-18 meses de idade, linha preta sólida) e animais do Experimento 2 (9-10 meses de idade, linha vermelha tracejada) ao longo do tempo. As áreas sombreadas indicam a estação seca (bege) e a estação chuvosa (azul).

5.4 Influência sazonal na prevalência

A associação entre prevalência de infecção e variação sazonal foi avaliada agregando todas as amostras coletadas durante os períodos seco e chuvoso (Figura 4).

Nos animais do Experimento 1, a prevalência geral foi maior durante a estação seca (28,7%) em comparação com a estação chuvosa (13,1%) (Figura 4 A). No entanto, é importante destacar que os maiores valores de prevalência foram observados no início da estação seca (Figura 2A), quando as condições ambientais ainda estavam influenciadas pelo período chuvoso anterior, incluindo níveis elevados de umidade.

Animais do Experimento 2 exibiram uma prevalência substancialmente maior durante a estação chuvosa (41,2%) em comparação com a estação seca (12,8%) (Figura 4 B). O odds ratio (OR) indicou que os animais tinham 4,78 (IC 95% 2,74-8,63) vezes mais chances de infecção durante a estação chuvosa, sugerindo que a precipitação desempenha um papel crítico nas infecções por *D. viviparus*.

A análise agregada, combinando dados de ambos os grupos experimentais, demonstrou uma correlação significativa entre a prevalência de infecção e o período chuvoso (Figura 4 C). Esses resultados indicam que as condições ambientais, particularmente a precipitação e a umidade, influenciam fortemente a dinâmica da infecção.

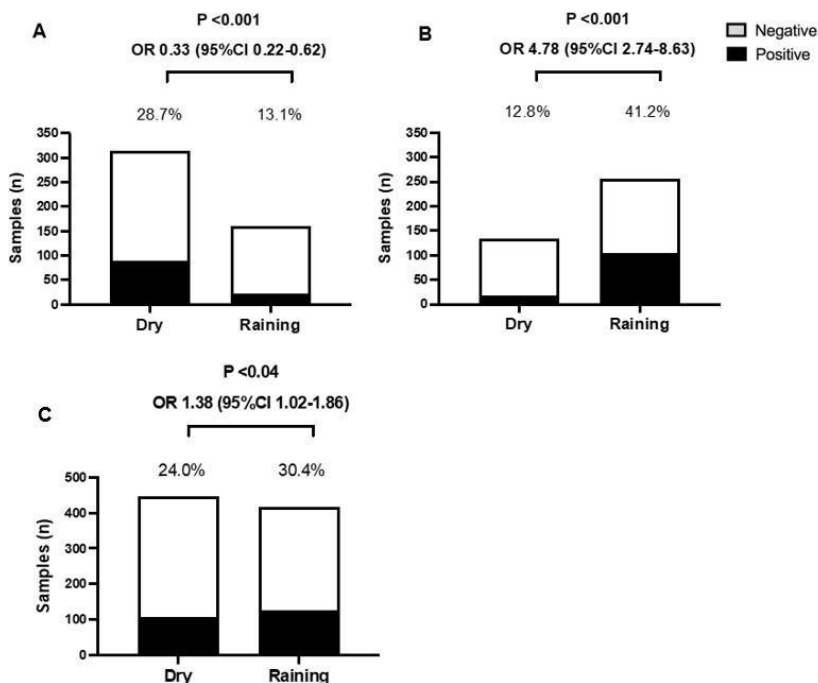


Figura 4. Associação entre prevalência de infecção e variação sazonal em bovinos do Experimento 1 (animais de 16-18 meses de idade) (A), Experimento 2 (animais de 9-10 meses de idade) (B) e agregados dos dois experimentos (C). As barras pretas indicam a porcentagem de animais positivos, enquanto as barras brancas representam os casos negativos. A significância estatística foi determinada usando o teste exato de Fisher.

6. DISCUSSÃO

Os achados moleculares neste estudo revelaram a presença de espécies de *Dictyocaulus*, destacando os desafios associados à identificação definitiva de espécies em populações bovinas naturalmente infectadas. A PCR multiplex amplificou um fragmento compatível com *D. capreolus*, enquanto o sequenciamento de próxima geração (NGS) identificou uma predominância de *D. viviparus* (25,8% das leituras totais).

O gênero *Dictyocaulus* consiste em espécies intimamente relacionadas com regiões altamente conservadas do DNA ribossômico, tornando a diferenciação no nível da espécie desafiadora, especialmente em ensaios moleculares que dependem desses marcadores genéticos. Estudos têm relatado que a amplificação cruzada, assim como a disponibilidade limitada de sequências de referência, pode contribuir para a classificação incorreta nas análises de NGS e dificultar a atribuição taxonômica precisa. Além disso, a possibilidade de populações híbridas ou espécies crípticas dentro do gênero *Dictyocaulus*

torna ainda mais difícil a identificação precisa (Ács et al., 2016).

Dadas essas incertezas e as limitações atuais na confirmação das espécies, nos referimos coletivamente aos parasitas detectados como *Dictyocaulus sp.* neste estudo. Investigações futuras devem incorporar ensaios PCR específicos para espécies, sequenciamento de genoma completo e bancos de dados de referência expandidos para melhorar a resolução taxonômica e entender melhor a importância epidemiológica das infecções por *Dictyocaulus* em bovinos.

Os resultados deste estudo destacam a forte influência da sazonalidade na dinâmica da infecção por *Dictyocaulus sp.*, afetando tanto a prevalência quanto a excreção de larvas por grama de fezes (LPG). Esses achados estão alinhados com estudos anteriores que indicam que fatores ambientais, como temperatura e umidade, desempenham um papel crucial na sobrevivência e transmissão de larvas infectantes no ambiente (Van Dijk et al., 2010).

Foi observada uma forte associação entre precipitação e prevalência de infecção, já que as maiores taxas de animais positivos e o aumento da densidade larval ocorreram durante a estação chuvosa, coincidindo com períodos de alta umidade. Esse padrão sazonal de infecção é consistente com estudos anteriores, que sugerem que infecções por vermes pulmonares atingem o pico em períodos úmidos e chuvosos, pois essas condições favorecem a sobrevivência das larvas no ambiente e aumentam o risco de infecção (Hoberg & Brooks, 2015; Holzhauer et al., 2020).

Pesquisas anteriores também mostraram que a prevalência de *Dictyocaulus sp.* é maior em regiões temperadas e úmidas com alta precipitação ou irrigação intensa, já que essas condições facilitam o desenvolvimento e a sobrevivência das larvas, aumentando assim o risco de infecção durante os períodos chuvosos (Macedo et al., 2021). Em contraste, as taxas de infecção diminuem durante a estação seca, provavelmente devido às restrições ambientais, como baixa umidade e altas temperaturas, que inibem a sobrevivência e o desenvolvimento das larvas (Asmare, 2018). A redução significativa nas taxas de infecção observada no presente estudo durante o período seco sugere que as condições ambientais eram desfavoráveis para a sobrevivência e dispersão das larvas infectantes, limitando assim a exposição bovina ao parasita (Oliveira, 2017).

Curiosamente, embora a prevalência tenha diminuído no período seco, foi observando um ligeiro

aumento no meio para o final da estação chuvosa, apesar dos níveis consistentemente baixos de LPG. Esse fenômeno sugere que, embora tenha ocorrido exposição, a carga da infecção permaneceu baixa, possivelmente devido a fatores ambientais, imunológicos ou comportamentais influenciando a transmissão do parasita.

A interação entre *Dictyocaulus sp.* e seus hospedeiros bovinos é influenciada por múltiplos fatores, incluindo a resposta imunológica do hospedeiro. Estudos indicam que a infecção induz a produção de anticorpos específicos contra glicoproteínas do parasita, o que pode modular a resposta inflamatória do hospedeiro e afetar a dinâmica da infecção e a transmissão do parasita (Höglund et al., 2004; Springer, 2022).

O padrão sazonal observado neste estudo sugere que os fatores ambientais desempenham um papel fundamental na viabilidade das larvas, influenciando o risco de transmissão. Além disso, estudos recentes relataram surtos em fazendas no Alto Egito, sugerindo que vetores insetos, como moscas, podem desempenhar um papel inesperado na disseminação da doença (Abdallah et al., 2023). Curiosamente, alguns estudos relatam taxas mais altas de infecção nos períodos secos, sugerindo que fatores como resistência das larvas ou adaptação do parasita a ambientes secos também podem influenciar a transmissão (Oliveira, 2017).

Dado que as larvas de *Dictyocaulus sp.* são altamente suscetíveis à dessecação, com a maioria perecendo em 2 a 3 semanas sob condições secas de verão, é possível que, durante períodos prolongados de seca, as larvas permaneçam encapsuladas dentro das fezes ou camadas de solo. Quando a precipitação retorna, grandes números de larvas infectantes são liberadas, resultando em um aumento súbito no risco de transmissão (Sargison, 2016). Isso poderia explicar o pico de infecção observado no início da estação chuvosa, quando as condições ambientais se tornam repentinamente favoráveis à sobrevivência e dispersão das larvas.

Uma diferença notável na suscetibilidade foi observada entre os grupos etários, com animais mais jovens apresentando taxas de infecção mais altas do que os mais velhos. No Experimento 1 (animais de 16-18 meses de idade), a prevalência de infecção e a excreção de larvas diminuíram progressivamente ao longo do período do estudo, sugerindo que os animais desenvolveram imunidade protetora ou experimentaram

reinfeção reduzida devido a fatores comportamentais ou imunológicos. Por outro lado, no Experimento 2 (animais de 9-10 meses de idade), a prevalência de infecção variou significativamente, com picos chegando a 70% durante a estação chuvosa. A taxa de infecção significativamente mais alta em animais mais jovens sugere que a imaturidade imunológica desempenha um papel crucial na suscetibilidade à infecção. Infecções experimentais com *D. viviparus* em bezerros mostraram que animais jovens podem desenvolver uma imunidade robusta contra reinfeções (Mattos, 2023). Bezerros previamente expostos ao parasita exibiram cargas reduzidas de vermes nos pulmões e menor excreção de larvas nas fezes após reinfeção (Jarrett et al., 1960). Além disso, foi demonstrado que o gado adulto desenvolve imunidade rápida contra *Dictyocaulus sp.*, a qual pode ser mantida mesmo sem exposição contínua ao parasita. No entanto, em certas condições, reinfeções massivas podem levar a surtos em bovinos adultos (Schade et al., 2020).

O controle eficaz dos vermes pulmonares em condições temperadas depende não apenas de tratamentos anthelmínticos regulares e manejo de pastagens, mas também de vacinação com larvas de terceiro estágio irradiadas (L3). No entanto, a vacina comercial está disponível apenas em alguns países europeus, exigindo importação para uso em estados não membros. Embora ofereça proteção sazonal, a vacina apresenta várias limitações, incluindo altos custos de produção, curta vida útil e necessidade de armazenamento refrigerado. Além disso, sua produção depende de animais doadores infectados, levantando preocupações éticas. Devido a essas restrições, a adoção da vacina tem sido limitada, levando ao seu retiro de certos mercados, como a Alemanha (Springer, 2022).

Dado esses desafios, estratégias alternativas de controle devem ser consideradas. Alguns estudos sugerem que a exposição controlada ao parasita poderia ajudar as populações bovinas a desenvolver imunidade natural, reduzindo a dependência de anthelmínticos enquanto previnem doenças clínicas (Ploeger et al., 2000; Ploeger, 2002; Pal et al., 2024). Monitorar os níveis de infecção usando diagnósticos coproparasitológicos e moleculares pode orientar o uso racional de anthelmínticos, minimizando o risco de resistência a medicamentos enquanto mantém o controle efetivo do parasita (Zafari, 2022).

Nossos achados demonstram uma forte influência sazonal na dinâmica da infecção por *Dictyocaulus* na Amazônia, com maior prevalência durante a estação chuvosa, provavelmente devido ao aumento da

umidade favorecendo a sobrevivência das larvas. No entanto, a presença de larvas infectantes no início da estação chuvosa sugere que as larvas podem persistir nas fezes ou no solo durante o período seco, tornando-se disponíveis assim que a precipitação retoma. Animais mais jovens apresentaram taxas de infecção mais altas, reforçando o papel da imaturidade imunológica na suscetibilidade. A identificação molecular confirmou a presença de *Dictyocaulus sp.*, no entanto, a detecção de sequências adicionais ou a possibilidade de amplificação não específica levanta questões sobre a verdadeira identidade da espécie. Dadas essas incertezas, optamos por nos referir aos parasitas detectados como *Dictyocaulus sp.*. Nossos resultados destacam a necessidade de ferramentas moleculares específicas para a espécie e enfatizam que o controle de vermes pulmonares em regiões equatoriais deve considerar a sazonalidade, tratamentos direcionados e estratégias de manejo de pastagem para reduzir efetivamente o risco de infecção.

7. CONCLUSÃO

A infecção por *Dictyocaulus spp.* em bovinos da Amazônia Brasileira é fortemente influenciada pela sazonalidade, com maior prevalência durante a estação chuvosa. As condições ambientais, particularmente a umidade e a precipitação, desempenham um papel crucial na sobrevivência e transmissão das larvas infectantes, impactando diretamente a dinâmica da infecção. Além disso, a maior susceptibilidade dos animais mais jovens evidencia a importância do desenvolvimento imunológico na proteção contra a doença. A análise molecular confirmou a presença de diferentes espécies de *Dictyocaulus*, porém a identificação precisa foi limitada pelas semelhanças genéticas entre os parasitas e pela possibilidade de amplificação não específica. Os resultados indicam a necessidade de estudos adicionais com ferramentas moleculares mais específicas para uma caracterização mais detalhada das espécies envolvidas.

Diante dessas descobertas, estratégias eficazes de controle devem considerar a adaptação do parasita ao clima equatorial, priorizando medidas preventivas, como o manejo adequado das pastagens, o controle integrado de parasitas e o uso racional de anti-helmínticos para evitar a resistência medicamentosa.

8. REFERENCIAS

- ABDALLAH, O. R. et al. First record of an outbreak of *Dictyocaulus viviparus* infection in cattle and buffalo farms in Assiut, Upper Egypt with special reference to the role of filth flies in the disease transmission. **Journal of Advanced Veterinary Research**, v. 13, n. 5, p. 776-784, 2023.
- ÁCS, Z.; HAYWARD, A.; SUGÁR, L. Genetic diversity and population genetics of large lungworms (*Dictyocaulus*, Nematoda) in wild deer in Hungary. **Parasitology Research**, v. 115, n. 9, p. 3295-3312, 2016.
- ASMARE, Kassahun et al. Lungworm infection in small ruminants in Ethiopia: Systematic review and meta-analysis. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 14, p. 63-70, 2018.
- AVRAMENKO, R. W. et al. Exploring the gastrointestinal “nemabiome”: deep amplicon sequencing to quantify the species composition of parasitic nematode communities. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0143559, 2015.
- BEZERRA-SANTOS, M. A. et al. Transmammary transmission of *Troglostrongylus brevior* feline lungworm: a lesson from our gardens. **Veterinary Parasitology**, v. 285, p. 109215, 2020.
- BANGOURA, B.; BRINEGAR, B.; CREEKMORE, T. E. *Dictyocaulus cervi*-like lungworm infection in a Rocky Mountain elk (*Cervus canadensis nelsoni*) from Wyoming, USA. **The Journal of Wildlife Diseases**, v. 57, n. 1, p. 71-81, 2021.
- BUSETTI, E. T.; THOMAZ, V.; RUIS, E. Incidência parasitária em *Bos taurus* no Município de Imperatriz, Maranhão (Brasil). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, p. 427-435, 1983.
- CAVALCANTI, I. F. A. Tempo e clima no Brasil. Oficina de Textos, 2016.
- COSTA-JUNIOR, L. M. et al. O metabarcoding do nemabioma revela diferenças entre as espécies de nematóides gastrointestinais que infectam ovinos e caprinos em co-pastoreio. **Parasitologia Veterinária**, v. 289, p. 109339, 2021.
- DE ALMEIDA, A. C. D. F. et al. Diagnóstico e controle químico das helmintoses em bovinos: revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e4089119908-e4089119908, 2020.
- DE QUADROS, Danilo Gusmão et al. Verminose em caprinos e ovinos mantidos em pastagens de *Panicum maximum* jacq. no período chuvoso do ano. **Ciência Animal Brasileira/Brazilian Animal Science**, v. 11, n. 4, p. 751-759, 2010.
- FARFÁN, B. Q. M. J. Biología molecular aplicada al diagnóstico clínico. **Revista Médica Clínica Las Condes**, v. 26, n. 6, p. 788-793, 2015.
- FARIAS, T. S. Rodovias das águas: uma análise espacial da operação pipa no semiárido paraibano. 2018.
- FERREIRA, A. S. et al. Geo-helmintíases: cenário atual, agentes etiológicos, diagnósticos, tratamento e prevenção. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 15, n. 5, p. 4782-4801, 2023.
- FILIP-HUTSCH, K. et al. First report of a newly-described lungworm, *Dictyocaulus cervi* (Nematoda: Trichostrongyloidea), in moose (*Alces alces*) in central Europe. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 13, p. 275-282, 2020.

FORRESTER, S. G.; LANKESTER, M. W. Extracting protostrongylid nematode larvae from ungulate feces. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 33, n. 3, p. 511-516, 1997.

FURLONG, J.; NOVAS, J. C. V.; CARDOSO FILHO, J. B. Parasitoses dos bovinos na região da zona da mata de Minas Gerais II. Incidência estacional de nematódeos pulmonares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 20, n. 12, p. 1409-1413, 1985.

GIBBONS, L. M.; HÖGLUND, J. Dictyocaulus capreolus n. sp. (Nematoda: Trichostrongyloidea) from roe deer, Capreolus capreolus and moose, Alces alces in Sweden. **Journal of Helminthology**, v. 76, n. 2, p. 119-124, 2002.

GOMES, A. R. S. et al. Estudo da Relação entre a Variabilidade dos índices de Vegetação e Temperatura da Região Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 34, p. 359-368, 2019.

GRISI, L. et al. Reavaliação do potencial impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 150-156, 2014.

HAAS, D. J.; TORRES, A. C. D. Aplicações das técnicas de PCR no diagnóstico de doenças infecciosas dos animais. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 14, n. 26, 2016.

HERNÁNDEZ-SERRATOS, M.; DÍAZ-SÁNCHEZ, V. Verminosis pulmonar em pequenos ruminantes, descrição da doença, prevenção, controle e tratamento. **CienciaUAT**, v. 17, n. 1, p. 152-161, 2022.

HOBERG, Eric P.; BROOKS, Daniel R. Evolution in action: climate change, biodiversity dynamics and emerging infectious disease. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1665, p. 20130553, 2015.

HOLZHAUER, M. et al. Surtos de vermes pulmonares em vacas leiteiras adultas: estimando perdas econômicas e lições a serem aprendidas. **Registro Veterinário**, v. 169, n. 19, p. 494-494, 2011.

HORCAJADA-SÁNCHEZ, F. et al. The effect of livestock on the physiological condition of roe deer (Capreolus capreolus) is modulated by habitat quality. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 15953, 2019.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2023. Disponível em: <https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/territorio/20644-clima.html>. Acesso em: 29 maio 2023.

JARRETT, W. F. H. et al. Immunological Studies on Dictyocaulus viviparus Infection. **Immunology**, v. 3, n. 2, 1960.

JIMÉNEZ, A. E. et al. Dynamics of infections with gastrointestinal parasites and Dictyocaulus viviparus in dairy and beef cattle from Costa Rica. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3-4, p. 262-271, 2007.

JOHNSON, M. et al. Dictyocaulus species: cross infection between cattle and red deer. New Zealand **Veterinary Journal**, v. 51, n. 2, p. 93-98, 2003.

JØRGENSEN, R. J. et al. Spread of infective Dictyocaulus viviparus larvae in pasture and to grazing cattle: experimental evidence of the role of Pilobolus fungi. **Veterinary Parasitology**, v. 10, n. 4, p. 331-339, 1982.

KAFLE, P.; LEJEUNE, M.; VEROCAI, G. G. et al. Morphological and morphometric differentiation of dorsal-spined first stage larvae of lungworms (Nematoda: Protostrongylidae) infecting muskoxen (Ovibos moschatus) in the central Canadian Arctic. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 10, p. 283-290, 2015.

KOZICH, James J. et al. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. **Applied and environmental microbiology**, v. 79, n. 17, p. 5112-5120, 2013.

LAT-LAT, H. et al. First report of bovine lungworm disease in South-East Asia. **Tropical Biomedicine**, v. 24, n. 1, p. 77-81, 2007.

MACEDO, L. O. et al. Lungworms in ruminants from Brazil: A retrospective epidemiological study over four decades. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 26, p. 100645, 2021.

MACEDO, L. O. et al. Estudo larvoscópio de Dictyocaulus sp. em fezes de bovinos de corte do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 31, n. 3, 2022.

MALJKOVIC BERRY, I. et al. Next generation sequencing and bioinformatics methodologies for infectious disease research and public health: approaches, applications, and considerations for development of laboratory capacity. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 221, n. Supplement_3, p. S292-S307, 2020.

MARCELINO, A. P. et al. Comparative PCR-based diagnosis for the detection of Leishmania infantum in naturally infected dogs. **Acta Tropica**, v. 207, p. 105495, 2020.

MATTOS, Mary Jane Tweedie de. **Parasitoses de bovinos: helmintoses**. 2023.

MCCARTHY, C. et al. Predicting the unpredictable? A climate-based model of the timing of peak pasture infectivity for Dictyocaulus viviparus. **Veterinary Parasitology**, v. 309, p. 109770, 2022.

MCNULTY, S. N. et al. Dictyocaulus viviparus genome, variome and transcriptome elucidate lungworm biology and support future intervention. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 20316, 2016.

OLIVEIRA, Plínio Aguiar de et al. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 08, p. 797-801, 2017.

OYARZÚN-RUIZ, P.; MUÑOZ, P.; VALENZUELA, G. Southern pudu (Pudu puda) (Artiodactyla: Cervidae) as an additional host for Dictyocaulus eckerti (Strongylida: Dictyocaulidae). **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 89, n. 1, p. 301-305, 2018.

PANAYOTOVA-PENCHEVA, M. S. et al. Some pathological features of lungs from domestic and wild ruminants with single and mixed protostrongylid infections. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, 2010.

PANCIERA, R. J.; CONFER, A. W. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 26, n. 2, p. 191-214, 2010.

PANUSKA, C. Vermes pulmonares de ruminantes. **Clínicas Veterinárias: Prática Alimentar Animal**, v. 22, n. 3, p. 583-593, 2006.

PAL, Mahendra et al. A Critical Review on Vaccine Development Against Helminths of Ruminants. *Advance in Biological Research*, v. 5, n. 1, 2024.

PEEL, D. S. The effect of market forces on bovine respiratory disease. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 36, n. 2, p. 497-508, 2020.

PIMENTEL NETO, M.; FONSECA, A. H. Epidemiologia das helmintoses pulmonares e gastrintestinais de bezerros em região de baixada do Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, p. 148-152, 2002.

PLOEGER, H. W. Dictyocaulus viviparus: re-emerging or never been away? **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 8, p. 329-332, 2002.

PYZIEL, A. M. Molecular analysis of lungworms from European bison (*Bison bonasus*) on the basis of small subunit ribosomal RNA gene (SSU). **Acta Parasitologica**, v. 59, n. 1, p. 122-125, 2014.

PYZIEL, A. M.; LASKOWSKI, Z.; HÖGLUND, J. Development of a multiplex PCR for identification of Dictyocaulus lungworms in domestic and wild ruminants. **Parasitology Research**, v. 114, n. 10, p. 3923-3926, 2015.

PYZIEL, A. M. et al. Large lungworms (Nematoda: Dictyocaulidae) recovered from the European bison may represent a new nematode subspecies. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 13, p. 213-220, 2020.

PYZIEL, A. M. et al. Distribution of large lungworms (Nematoda: Dictyocaulidae) in free-roaming populations of red deer *Cervus elaphus* (L.) with the description of Dictyocaulus skrjabini n. sp. **Parasitology**, v. 150, n. 10, p. 956-966, 2023.

RODRIGUES, M. L. A. Classificação e morfologia de nematoides em medicina veterinária. Rio de Janeiro, 2016.

RADOSTITS, O.M. et al. Clínica Veterinária- Um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2010.

SAMADI, Assadullah et al. Prevalence and pathological features of ovine lungworm infection in slaughtered animals in Nangarhar Province of Afghanistan. *Comparative Clinical Pathology*, v. 28, p. 1667-1673, 2019.

SARGISON, Neil. The unpredictable epidemiology of Dictyocaulus viviparus lungworm infection of cattle. **Veterinary Ireland Journal**, v. 6, n. 7, 2016.

SCHADE, Jackson et al. Dictiocaulose em bovinos no município de Londrina, PR, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 1-6, 2020.

SCHLOSS, Patrick D. et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 23, p. 7537-7541, 2009

SHITE, Anmaw; ADMASSU, Bemrew; YENEW, Amare. Bovine dictyocaulosis: a review. 2015.

SILVA, Marcia Cristina da; BARROS, Ricardo Rocha de; GRAÇA, Dominguita Lüher. Surto de dictiocaulose em bovinos no município de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, p. 629-632, 2005

SMITH, Bradford P. (Ed.). **Medicina interna de grandes animais**. Manole, 2006.

SPRINGER, Andrea et al. Immunization Trials with Recombinant Major Sperm Protein of the Bovine Lungworm Dictyocaulus viviparus. **Pathogens**, v. 11, n. 1, p. 55, 2022.

STRYDOM, T. et al. The economic impact of parasitism from nematodes, trematodes and ticks on beef cattle production. **Animals**, v. 13, n. 10, p. 1599, 2023.

VALENTE, Romina; ROBLES, Maria del Rosario; DIAZ, Julia Inés. Gastropods as intermediate hosts of Angiostrongylus spp. in the Americas: bioecological 22 characteristics and geographical distribution. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, 2020.

VAN DIJK, J.; SARGISON, N. D.; KENYON, F.; SKUCE, P. J. Climate change and infectious disease: helminthological challenges to farmed ruminants in temperate regions. **Animal**, [s.l.], v. 4, n. 3, p. 377-392, mar. 2010.

VEROCAI, G. G. et al. The technique of Baermann for lungworm diagnosis. **Veterinary Parasitology**, v. 28, p. 1205, 2020.

ZAFARI, Salman et al. The prevalence and control of lungworms of pastoral ruminants in Iran. **Pathogens**, v. 11, n. 12, p. 1392, 2022.